ISTITUTO DI FISIOLOGIA
DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

LAVORI SPERIMENTALI

PUBBLICATI SOTTO LA DIREZIONE

DEL

PROF. TULLIO GAYDA

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOLS OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

VOLUME I.

1929-1932

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/lavori-sperimentali_1929-1932_1

ISTITUTO DI FISIOLOGIA

DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

LAVORI SPERIMENTALI

PUBBLICATI SOTTO LA DIREZIONE

DEL

PROF. TULLIO GAYDA

VOLUME I.

1929-1932

7. MOLTENI P. — Influenza della castrazione e del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero degli eritrociti, sulla quantità di emoglobina e sulla formula leucocitaria (*Haematologica*, X, 517, 1929) . . . . . *Pag.* 57

8. BURATTI P. — Sulle variazioni locali della pressione arteriosa per effetto della temperatura (*Archivio di Scienze Biologiche*, XIV, 182, 1929) » 71

9. FERRARI R. — Ricerche ematologiche sulla rana salata (*Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia*, XLIII, 579, 1929) . . . » 79

10. FERRARI R. — Sulla formazione di sostanza acidofila interpretabile come emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana (*Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia*, XLIII, 585, 1929) . . . . . » 85

11. ROGATE T. — Sulle variazioni locali dello sfigmogramma per effetto del lavoro muscolare (*Archivio di Scienze Biologiche*, XIV, 369, 1930) » 95

12. FERRARI R. — Sulla divisione diretta degli eritrociti circolanti della rana (*Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia*, XLIV, 99, 1930) . . . . . » 105

13. MOSCHINI A. — Azione del taglio del tendine di Achille sul fosfogeno contenuto nel gastrocnemio di rana (*Archivio di Fisiologia*, XXVIII, 541, 1930) . . . . . » 113

14. MOSCHINI A. — Influence exercée par la section du sciatique et du tendon d'Achille sur le phosphagène du gastrocnémien de grenouille (*Archives Internationales de Physiologie*, XXXII, 305, 1930) . . . . . » 123

15. GAYDA T. — Influenza dell'iperglicemia sul potere amilolitico della saliva e del sangue (*Archivio di Scienze Biologiche*, XV, 147, 1930) . *Pag.* 155

16. GAYDA T. — Influenza dell'asportazione delle capsule surrenali sul potere amilolitico della saliva e del sangue (*Archivio di Scienze Biologiche*, XV, 162, 1930) . . . . . » 171

17. FERRARI R. — Influenza della tiroide sull'edema da perfusione con soluzioni saline (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, V, 414, 1930) . . . . . » 181

18. FERRARI R. — Sulla formazione dell'emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana (*Haematologica*, XI, 267, 1930) . . . . . » 185

19. FERRARI R. — Influenza della tiroide sull'edema da perfusione con soluzioni saline (*Archivio di Fisiologia*, XXIX, 191, 1930) . . » 201

20. FERRARI R. — Influenza della milza sulle variazioni determinate dalla castrazione e dal trapianto di gonadi eterosessuali nel numero degli eritrociti e dei leucociti, nella quantità di emoglobina e nella formula leucocitaria (*Haematologica*, XI, 421, 1930) . . . . . » 213

21. FERRARI R. — Influenza delle proteine del sangue sulla scomparsa dell'edema nella rana salata (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, V, 838, 1930) . . . » 221

22. FERRARI R. — Sulla funzione fagocitaria dei megaloblasti nello sviluppo ontogenetico della rana (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, V, 840, 1930) . . . » 223

23. Ferrari R. — Ricerche ematologiche sulla rana salata. Eritropoiesi ed eritremia sperimentale (*Haematologica*, XII, 19, 1931) . . . . *Pag.* 225

24. Ferrari R. — Influenza della tiroide sul punto isoelettrico della cute e dei muscoli (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, VI, 118, 1931) . . . . . » 251

25. Ferrari R. — Sulla divisione diretta degli eritrociti circolanti della rana (*Haematologica*, XII, 587, 1931) . . . . . » 253

26. Cortese F. — Influenza dei salassi e dell'adrenalina sulla coagulabilità del sangue (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, VI, 569, 1931) . . . . . » 267

27. Ferrari R. e Cortese F. — Influenza del pancreas sulla coagulazione del sangue (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, VI, 567, 1931) . . . . . » 271

28. Ferrari R. e Rusconi M. — Ricerche sulla costituzione morfologica del timo nella cosid detta rana salata (*Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, VI, 565, 1931) » 275

29. Livraga P. — Influenza del sistema nervoso autonomo sulla coagulazione del sangue (*Archivio di Fisiologia*, XXX, 189, 1931) . . » 279

30. Cortese F. — Influenza dei salassi e dell'adrenalina sulla coagulabilità del sangue (*Archivio di Fisiologia*, XXX, 222, 1931) . . . . » 314

31. Ferrari R. — Influenza della tiroide sul punto isoelettrico della cute e dei muscoli (*Archivio di Fisiologia*, XXX, 271, 1931) . . . . » 333

32. Livraga P. — Effetti della legatura massiva di una parte del pancreas (*Archivio dell'Istituto Biochimico Italiano*, III, 391, 1931) . . » 341

33. Ferrari R. — Influenza dell'alimentazione tiroidea sulla costituzione morfologica del sangue del girino di rana (*Archivio di Scienze Biologiche*, XVI, 411, 1931) . . . . *Pag.* 387

34. Ferrari R. — Ricerche ematologiche nello sviluppo ontogenetico della rana. Nota I. Sulla primitiva cellula migrante del sangue (*Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, XVI, 757, 1932) . . . . . » 397

35. Ferrari R. — Ricerche ematologiche nello sviluppo ontogenetico della rana. Nota II. Sulla funzione fagocitaria dei megaloblasti (*Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, XVI, 762, 1932) » 402

36. Ferrari R. — Influenza delle paratiroidi sulla coagulazione del sangue (*Archivio di Fisiologia*, XXXI, 200, 1932) . . . . . » 408

37. Ferrari R. — Influenza delle proteine del sangue sulla scomparsa dell'edema nella rana salata (*Archivio di Fisiologia*, XXXI, 208, 1932) . » 416

38. Ferrari R. — Formazione tardiva di edema nella rana salata dopo perfusione con liquidi ipertonici (*Archivio di Fisiologia*, XXXI, 213, 1932) . . . . . » 421

39. Ferrari R. — Ricerche sulla formazione della emoglobina nella rana salata. Nota I. Azione della emoglobina e di alcuni suoi derivati (ematina, ematoporfirina, ferropirrolo, pirrolo e ferro) (*Archivio di Scienze Biologiche*, XVII, 25, 1932) . . . . . » 427

40. Ferrari R. e Cortese F. — Influenza del pancreas sulla coagulazione del sangue (*Archivio di Fisiologia*, XXXI, 274, 1932) . . . » 443

41. Gayda T. — Influenza della tiroidectomia sul potere amilolitico della saliva e del sangue (*Archivio di Scienze Biologiche*, XVII, 206, 1932) *Pag.* 457

42. Gayda T. — Il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio dell'uomo (*Archivio di Fisiologia*, XXXI, 481, 1932) . . . . . » 465

ACTION DE L'INSULINE SUR LE CHIEN OPÉRÉ DE DÉCÉRÉBELLATION (*)

A MOSCHINI

Institut de Physiologie de la R. Université de Pavia dirigé par le prof. T. Gayda).

Il est connu que, dans le chien, les manifestations qui viennent à la suite de l'injection d'insuline sont caractérisées par une inquiétude et une hypersensibilité générale, par augmentation de la fréquence de la respiration et du pouls, par de légères secousses musculaires, presque toujours par la formation de bave écumante à la bouche, souvent de relâchement des sphincters. Ces symptômes aboutissent plus tard en contractions violentes tonico-cloniques qui se répètent, en général, après des pauses plus ou moins courtes, amenant presque toujours la mort de l'animal par arrêt de la respiration. Dans les intervalles entre deux accès convulsifs il est rare que l'animal se reprenne; il demeure le plus souvent étendu sur un flanc complètement privé de conscience: si on ne le secourt pas en lui administrant une quantité suffisante de glycose, dans le cas où il ne meurt pas sous un nouvel accès, il entre en état comateux et meurt lentement.

On a l'impression que, dans le tableau symptômatique déterminé par l'injection d'insuline, des facteurs jouent leur rôle qui agissent sur le système nerveux central. Nous n'avons pas pourtant des connaissances complètes sur les parties qui ressentent le plus l'influence de cette substance; et d'ailleurs le mécanisme par lequel l'hormone pancréatique manifeste son action sur le système nerveux nous est encore inconnu.

Quant à ce dernier point, on a cru reconnaître des causes déterminantes, outre que dans le bas pourcentage du sucre, dans la présence d'un état asphyxique de l'axe cérébro-spinal provoqué par un ralentissement des processus oxydatifs; ainsi que dans l'apparicertains produits de l'échange (qui se formeraient surtout dans le foie) capables d'exciter le système nerveux.

(*) *Boll. Soc. Medico-Chirurgica*, Pavia, 1928 (a. VII), Fasc. 6.

Pour ce qui a trait à la localisation de l'excitation des centres nerveux, tous les chercheurs se sont bornés à étudier — chez les animaux traités par insuline — la manifestation ou le défaut des convulsions après exportation des différentes parties de l'axe cérébro-spinal. Tandis que OLMSTED et LOGAN [1] en vinrent à la conclusion que, dans les chats décapités, injectés d'avance par insuline, ne se manifestent pas les convulsions typiques que provoque, dans les mêmes animaux, la décérébration, OLMSTED et TAYLOR [2] eurent à conclure — sur la base de leurs résultats — que la présence de la moelle épinière est une condition suffisante pour l'apparition des convulsions par insuline. KLEITMAN et MAGNUS [3] pourtant réfutèrent cette conclusion, n'ayant jamais réussi à atteindre les résultats d'OLMSTED et TAYLOR. Ils établirent aussi que les convulsions peuvent se manifester indépendamment de la présence du télencéphale, des couches optiques, de la partie antérieure du mésencéphale, aussi bien que de l'intégrité du labyrinthe; puisque ces chercheurs ont pu exporter ces différentes parties sans empêcher que les convulsions par insuline eussent à se produire.

Partant, tandis que l'ensemble des expériences semble démontrer que l'apparition des convulsions hypoglycémiques se rattache à l'intégrité du bulbe, on ne sait si l'insuline fait sentir son influence sur les autres parties du système cérébro-spinal.

Pour éclaircir ce sujet j'ai institué quelques recherches, dont je vais exposer les résultats.

LUCIANI dans son étude sur le cervelet, pour démontrer la possibilité de démêler les phénomènes d'insuffisance cérébellaire des phénomènes de compensation fonctionnelle, a détruit, dans les chiens hémi-décérébellés, la zone motrice du cerveau d'un ou des deux côtés: ce qui lui a permis de relever que, par le second acte opératoire (ablation de la zone motrice du côté opposé à celui qui est privé de cervelet, ou bien ablation bilatérale de la zone motrice), l'animal hémi décérébellé «perd de nouveau, pendant longtemps, ou respectivement pour toujours, le pouvoir qu'il a recouvré de se

(*) *The effect of insulin on the central nervous system and its relations to the pituitary body* (Amer. Jour of Physiol., LXVI, 437, 1923).

(2) *The effect of insulin on the blood* (Amer. Journ. of Physiol., LXIX, 142, 1924).

(1) *Zur Wirkung des Insulin an das Zentralnervensystem* (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol., CCV, 148, 1924).

tenir sur ses pattes et de marcher sans tomber du côté où le cervelet fait défaut ».

A l'appui de ces données je me suis proposé de traiter par l'insuline des chiens depuis quelque temps hémi-décérébellés, où les phénomènes de compensation étaient évidents, pour établir si l'administration de l'hormone pancréatique serait capable de faire réapparaître en ces animaux les phénomènes d'insuffisance cérébellaire. Dans le cas affirmatif la conclusion s'imposerait que l'insuline agit, non seulement sur le bulbe, mais aussi sur la zone motrice du cerveau; et que, outre un mécanisme d'excitation, tel que celui que nous laissent supposer l'agitation et l'hypersensibilité générale qui se montrent tout d'abord dans les animaux traités par insuline, le phénomène opposé de la dépression doit intervenir à son tour.

Les résultats que j'ai obtenus ont été tels qu'ils ont confirmé mes prévisions. J'ai expérimenté sur 5 chiens. On avait choisi des animaux sains et forts, d'un poids variable entre 8 et 12 Kg; sur chaque sujet on fit plusieurs expériences, avec un intervalle entre l'une et l'autre de 10 jours au moins. La quantité d'insuline injectée sous la peau, tout en variant en raison inverse de l'activité du produit utilisé, tournait sur 3 U. Cl. par Kg. Ce qui m'a surtout donné de bons résultats c'est l'insuline *Ergon* en poudre, dissoute au moment de l'emploi en 3 cc. de solution physiologique stérile.

Les premières manifestations que l'on remarque dans un chien hémi-décérébellé (à jeun depuis 24 h.) à la suite d'injection d'insuline ne diffèrent pas du tout de celles que l'on observe dans les chiens de contrôle: c'est à dire que l'on remarque que le chien aboie furieusement, qu'il est inquiet, agité; de légères secousses musculaires apparaissent ensuite, à la charge de petits groupes de muscles; elles se font de plus en plus fréquentes et intenses. Ce n'est que lorsque commencent à paraître les phénomènes de parésie, plus évidents dans les membres postérieurs, que se montrent les différentes façons de se comporter entre le chien hémi-décérébellé et son témoin. En effet, tandis que ce dernier, à mesure que la symptômatologie empire, ne réussissant plus à se tenir sur ses jambes, tombe indifféremment d'un côté ou d'autre, l'animal hémi-décérébellé ne tombe que sur le flanc correspondant au côté de l'opération. D'autres différences paraissent ensuite peu avant la manifestation des accès convulsifs, lorsque le chien hémi-décérébellé n'est plus capables de se soutenir sur ses membres, pas même lorsqu'on a

recours à l'artifice de l'appuyer à la paroi, du côté correspondant à celui que l'on a opéré. On remarque alors — avec la formation de bave à la bouche et parfois relâchement des sphincters (analogiquement à ce que l'on a constaté dans les animaux témoins) — pleurothotonos plus ou moins marqué vers le côté correspondant à la mutilation cérébellaire, ainsi que extension forcée du membre antérieur homologue vis-à-vis de la lésion du cervelet. Chez les animaux que j'ai soumis à examen, il m'a été impossible de constater la contorsion spirale du cou et de la tête vers le côté sain, le nystagmus oculaire et les autres phénomènes dynamiques qui viennent à la suite de l'exportation d'une moitié latérale du cervelet. De toute façon, on ne saurait rien conclure à ce sujet, avant de poursuivre d'autres recherches sur des animaux opérés depuis un plus court espace de temps.

Avec l'explosion de violentes convulsions tonico-cloniques, qui intéressent toute la musculature du corps et qui s'accompagnent souvent d'émission d'urine et de matières fécales, ces différences entre animaux décérébellés et animaux témoins disparaissent pour se manifester de nouveau, en moindre degré, dans la période qui précède un nouvel accès.

Si on leur administre (par voie endoveineuse, sous-cutanée ou gastrique) une suffisante quantité de glycose, les chiens traités par insuline se rétablissent peu à peu d'une façon complète. Pourtant tandis que les chiens de contrôle, avant d'avoir reconquis la capacité de se soutenir d'une façon sûre sur leurs pattes, tombent indifféremment de côté ou d'autre, les animaux hémi-décérébellés, pendant un espace de temps qui varie de 15 à 20 minutes, et plus encore parfois, montrent qu'ils n'ont pas reconquis la capacité de se tenir sur leurs pattes et de marcher, sans tomber vers le côté manquant du cervelet.

Successivement, lorsque les animaux hémi-décérébellés reprennent à marcher, on remarque la tendance à se déplacer de tout le corps, même en ligne droite, vers le côté opéré; on remarque aussi que la démarche en pas de coq est généralement plus accentuée qu'auparavant et qu'elle dure quelque temps. Les mouvements oscillatoires de la tête paraissent aussi d'un degré plus marqué vis-à-vis de la période qui a précédé l'injection d'insuline. A mesure que disparaissent les effets dus à l'action de l'hormone pancréatique, les chiens hémi-décérébellés — par analogie à ce qui se passe pour les

animaux témoins - reprennent rapidement les mêmes conditions où ils se trouvaient au moment de l'injection d'insuline,

A l'appui de mes expériences, je crois pouvoir conclure que l'insuline —par un mécanisme inconnu juqu'ici— agit (au moins chez les animaux décérébellés) non seulement sur la moelle allongée, mais aussi sur la zone motrice du cerveau et, fort probablement, sur les autres parties de l'axe cérébro-spinal. Et comme, par effet de l'insuline, on obtient en même temps dans les chiens hémi-décérébellés, dans la période de compensation fonctionnelle, les mêmes manifestations qui s'y déterminent par l'exportartion bilatérale de la zone motrice du cerveau, je pense que l'on ne saurait se passer d'admettre que l'insuline manifeste son action paralysante du système nerveux chez ces animaux et cela sans écarter l'hypothèse, et même l'admettant, qu'une action excitante soit exercée, en un premier temps, par l'hormone pancréatique.

Au point de vue purement technique, je crois utile avoir indiqué un moyen simple par lequel on peut faire réapparaître, en même temps (outre quelques phénomènes dynamiques) les phénomènes d'insuffisance cérébellaire en animaux chez lesquels des faits de compensation foctionnelle avaient déjà paru.

SULL'INFLUENZA DELL'ADRENALINA, DELLA PILOCARPINA O DELL'ATROPINA SUL RIFLESSO PATELLARE.

Del Dott. PIETRO MOLTENI.

(*Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia.*)

SOMMARIO

I. — INTRODUZIONE . . . . . pag. 7
II. — TECNICA . . . . . » 9
III. — RISULTATI SPERIMENTALI . . . . . » 11
IV. — DISCUSSIONE DEI RISULTATI SPERIMENTALI . . . . . » 18
V. — CONCLUSIONI . . . . . » 19
VI. — BIBLIOGRAFIA . . . . . » 20

I. — INTRODUZIONE.

Dopo che DE BOER (1-3), basandosi sugli effetti prodotti dal taglio o dall'estirpazione del simpatico, affermò che il tono dei muscoli striati dipende dalla loro innervazione simpatica, molti altri autori si occuparono di questo argomento e non limitarono i loro esperimenti solo al taglio del simpatico, ma li estesero anche alla stimolazione elettrica o al trattamento del simpatico con farmaci. I risultati ottenuti solo raramente concordarono con quelli di DE BOER, molto più spesso furono con essi in aperto contrasto. Alcuni autori anzi, come FRANK (4) e SCHAEFFER (5-6), sostennero, in base ad osservazioni cliniche, che il tono muscolare sia in rapporto coll'innervazione parasimpatica, mentre quella simpatica agisca antagonisticamente alla prima.

Strettamente collegate colla questione dei rapporti fra tono muscolare e innervazione autonoma sono alcune ricerche eseguite sul modo di comportarsi dei riflessi tendinei in seguito a interventi sul sistema autonomo o a somministrazione di farmaci che agiscono elettivamente su di esso. È noto infatti come i riflessi tendinei varino nello stesso senso col variare del tono muscolare e perciò appaiano esagerati quando il tono muscolare è più accentuato e siano invece diminuiti quando esso è depresso.

Così TUTTLE (7) praticò delle iniezioni intramuscolari di adrenalina a nove uomini nella dose di 0,5 – 1,8 mg e osservò in tre casi un aumento notevole del riflesso patellare che durava quasi un'ora. In questi tre casi vari sintomi indicavano una ipersensibilità all'azione dell'adrenalina. TUTTLE crede che l'aumento del riflesso patellare in seguito all'iniezione dell'adrenalina sia dovuto ad un'azione diretta di questa sulle fibre simpatiche che vanno alla muscolatura scheletrica.

Invece KANAVEL, POLLOCK e DAVIS (8), in uomini affetti da paralisi agitante, da morbo di PARKINSON o da sclerosi laterale, non costatarono alcuna modificazione del riflesso patellare in seguito alla operazione di ROJLE del taglio dei rami comunicanti del simpatico.

Parimenti HUGGETT e MELLANBY (9) trovarono invariato il riflesso patellare nel gatto dopo iniezioni endovenose di adrenalina, ergotamina, atropina o pilocarpina e negarono perciò che il sistema nervoso simpatico o parasimpatico abbia un'influenza sul tono muscolare.

Al contrario KURÉ, KIMURA e TSUJI (10) in diversi casi clinici accertarono che il riflesso patellare e quello del tendine d'Achille aumentavano dopo l'iniezione di adrenalina specialmente se già prima erano accentuati.

Dati i risultati contradittori ottenuti dai diversi autori riguardo all'influenza del sistema nervoso autonomo sui riflessi tendinei, per consiglio del Prof. GAYDA, eseguii alcuni esperimenti in proposito collo scopo di portare un contributo alla discussa questione.

Questi esperimenti furono eseguiti sul cane registrando graficamente il riflesso patellare e studiando il modo di comportarsi di detto riflesso dopo iniezioni endovenose di sostanze che agiscono sul sistema nervoso autonomo. Sperimentai così l'azione dell' adrenalina che eccita il simpatico, quella della pilocarpina che eccita il parasimpatico e quella dell'atropina che paralizza quest'ultimo sistema. Non sperimentai invece l'azione dell'ergotamina, come fecero altri autori, poichè è dimostrato che questa sostanza paralizza solo alcune sezioni del sistema simpatico.

II. — Tecnica.

Il dispositivo da me usato per registrare graficamente il riflesso patellare è rappresentato schematicamente nella figura 1 e non è altro che quello adoperato da Perrini (11) per l'uomo, ma opportunamente modificato affinchè possa servire per il cane. Esso è costituito dalle seguenti parti:

1. — Un tavolo d'operazione, sul quale viene fissato l'animale da esperimento in posizione supina (non rappresentato nella figura).

2. — Un reggicoscia di legno *(a)* rivestito di stoffa, spostabile in ogni senso: su di esso viene adagiata la coscia dell'arto del quale viene registrato il riflesso patellare. Questo reggicoscia tiene un po' sollevata la coscia dalla posizione orizzontale.

3. — Un filo inestensibile (*b*), che va dall'articolazione tibio-tarsica della zampa del cane ad uno dei bracci di una leva orizzontale di primo genere *(c)*. Dall'altro braccio della leva parte un secondo filo *(d)* pure inestensibile, che porta in un certo punto un bottone *(e)*, passa attraverso il foro di una asticciuola metallica *(f)* fissata alla base del chimografo e va ad attaccarsi all'estremità inferiore di una piastrina metallica *(g)*, su cui è fissata la penna scrivente sul cilindro affumicato. La estremità superiore di detta piastrina è congiunta con una molla spirale *(h)*, che pende da un'asta metallica *(i)* fissata alla parte superiore del chimografo. La leva orizzontale ha lo scopo di rendere possibile la registrazione della contrazione muscolare e di ridurre eventualmente l'ampiezza di tale contrazione. L'orificio praticato nell'asticciola (*f*) serve di arresto al bottone e quindi al filo: mantiene perciò costante la tensione del legamento rotuleo determinata dalla molla prima d'ogni contrazione e fa in modo che la penna scriva, nella posizione di riposo, sempre sulla medesima ascissa.

4. — Un quadrante (*l*), sul quale sono riportate di 2 cm in 2 cm le diverse altezze dalle quali viene lasciato cadere il martello (*m*), il cui manico è girevole attorno ad un fulcro. Il martello viene a percuotere il legamento rotuleo sempre su di uno stesso punto, che è segnato mediante una matita dermografica sull'arto dell'animale. La testa del martello è costituita da un pezzo di legno su cui è fissato un pezzo di gomma, che ha lo scopo di far rimbalzare il martello stesso dopo ogni percussione, in modo che questo possa essere subito afferrato colla mano e non ricada perciò sul tendine. Prima di ogni esperimento si fissa l'altezza dalla quale deve cadere il martello

infiggendo nel punto corrispondente del quadrante un piuolo, contro il quale si riporta il martello dopo ogni percussione, così che l'intensità dello stimolo rimane costante per tutto l'esperimento. Il peso del martello è di 50 g circa. La lunghezza del manico è di 23 cm. Il quadrante ed il martello sono fissati su un'asta metallica annessa al tavolo d'operazione.

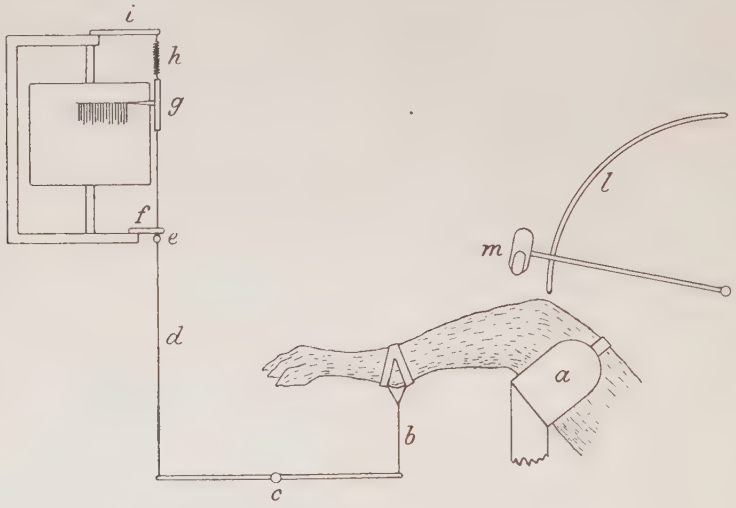


Fig. 1. — Schema del dispositivo usato per registrare graficamente il riflesso patellare nel cane.

Ecco ora il procedimento seguito nei miei esperimenti.

Fissato l'animale al tavolo d'operazione in posizione supina, lo narcotizzavo iniettando nella giugulare una soluzione di cloralosio all'8 $^{o}/_{oo}$ in soluzione di cloruro sodico al 0,9 $^{o}/_{o}$. Iniettavo la soluzione riscaldata a 37° C facendola defluire da una buretta graduata nella proporzione di 12 cm³ per kg del peso del corpo. Ho scelto come narcotico il cloralosio, perchè questo, come è noto, non modifica affatto i riflessi. L'azione del cloralosio durava due ore o due ore e mezza e permetteva perciò di compiere l'esperimento con tutta comodità.

Un quarto d'ora dopo l'iniezione di cloralosio, dopo aver collegato l'arto in esame coll'apparecchio di registrazione, procedevo alla registrazione del riflesso rotuleo provocandolo con stimoli susseguentisi ad intervalli di 8" e comandati da un metronomo. Questi intervalli erano tali da permettere un sufficiente riposo fra uno stimolo e l'altro. Tenevo il martello ad una determinata altezza (di regola 6 cm)

con due dita, appoggiandolo contro il piuolo d'arresto infisso in quella graduazione del quadrante che corrispondeva all'altezza scelta. Contando i battiti del metronomo, al momento opportuno lasciavo cadere il martello per proprio peso sul legamento rotuleo e lo riprendevo subito dopo la percussione. Ricondottolo all'altezza prestabilita, lo lasciavo ricadere, dopo trascorso l'intervallo di tempo necessario.

Dopo aver raccolto il tracciato del riflesso nell'animale in condizioni normali per circa un quarto d'ora, iniettavo, sempre nella giugulare e mediante la buretta, cloridrato di adrenalina PARKE, DAVIS e C., oppure cloridrato di pilocarpina, oppure solfato di atropina, variando opportunamente le dosi, come esporrò particolarmente nel protocollo dei singoli esperimenti.

Tutte queste sostanze erano iniettate in soluzione a $^1/_{100}$ fino a $^1/_{1.000.000}$ in soluzione di cloruro sodico al 0,9 %, così che la quantità di soluzione iniettata era di circa 1 cm³ per kg del peso del corpo.

III. — RISULTATI SPERIMENTALI.

Qui appresso sono riportati i protocolli dei singoli esperimenti.

Esper. I: 18-V-1928. — Cane di kg 17,500.

Ore 16 - Narcosi con iniezione di 200 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare destra. Inizio dei tracciati. I riflessi molto irregolari hanno una altezza media di 25 mm.

Ore 16,30 - Iniezione nella giugulare di 1,7 mg di adrenalina (0,1 mg per kg del peso del corpo). Dopo pochi secondi diminuzione nell'ampiezza dei riflessi di 5 mm circa (diminuzione del 20 %) e quindi lento ritorno alla norma.

Ore 16,45 - Iniezione di 2,4 mg di adrenalina. Diminuzione dell'ampiezza del riflesso del 25 % circa. La diminuzione si mantiene tale per circa 15', tende poi a scomparire e dopo mezz'ora i riflessi sono normali.

Ore 18 - Iniezione di 17 mg di pilocarpina (1 mg per kg del peso del corpo). Dopo l' scomparsa improvvisa dei riflessi. Abbondante salivazione. I riflessi si ripresentano dopo circa 3' molto diminuiti (circa del 50 %) e non tendono più ad aumentare.

Ore 18,30 - Nuova iniezione di pilocarpina (9 mg). Graduale diminuzione dei riflessi fino alla scomparsa completa.

Esper. II: 23-V-1928. — Cagna di kg 16.

Ore 15,30 - Narcosi con iniezione di 200 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare destra.

Ore 15,45 - Inizio dei tracciati. Riflessi regolari. Altezza media mm 32.

Ore 16 - Iniezione nella giugulare di 1,6 mg di adrenalina (0,1 mg per kg del peso del corpo). Rapido abbassamento nell'ampiezza dei riflessi, che si portano ad una altezza media di 20 mm (diminu-

zione del 38 % circa). Tale diminuzione si mantiene costante per 20'. I riflessi tendono poi gradatamente ad aumentare ed in 10' ritornano alla norma (fig. 2).

Ore 16,45 – Nuova iniezione di adrenalina nella dose di 0,8 mg (0,05 mg per kg del peso del corpo). Dopo 30" evidente diminuzione nell'altezza del riflesso, che si riduce in media a 22 mm (diminuzione del 28 %). Dopo 10' i riflessi incominciano ad aumentare e ritornano alla norma in 20'.

Ore 17,30 – Iniezione di 8 mg di pilocarpina (0,5 mg per kg del peso del corpo). Salivazione e contrazioni toniche. I riflessi diventano molto irregolari e diminuiscono notevolmente d'ampiezza.

Esper. III : 1–VI–1928. — Cane di kg 6,500.

Ore 15,10 – Narcosi con iniezione di 80 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15,20 – Inizio dei tracciati. Altezza media dei riflessi mm 12.

Ore 15,30 – Iniezione di 0,6 mg di adrenalina. Dopo 30", diminuzione dell'altezza dei riflessi sino ad 8 mm (diminuzione del 35 %). In 30" i riflessi ritornano alla norma.

Ore 17 – Altra iniezione di 0,6 mg di adrenalina. Leggera diminuzione del riflesso (20 %) e ritorno alla norma in 15'.

Ore 17,30 – Iniezione di 3 mg di pilocarpina. Salivazione abbondantissima e subitaneo insorgere di contrazioni tonico–cloniche diffuse ai muscoli del tronco e degli arti, che impediscono la registrazione dei riflessi. Dopo circa 30' i riflessi tornano regolari con una ampiezza media di 15 mm.

Ore 18,30 – Iniezione di 2,5 mg di pilocarpina. Subito dopo si osservano alcune lievi contrazioni tonico–cloniche che non disturbano la registrazione. I riflessi gradualmente diminuiscono sino a raggiungere un minimo di circa 3 mm di altezza (diminuzione del 80 %). Gradualmente i riflessi aumentano senza però raggiungere l' altezza normale.

Esper. IV : 12–VI–1928. — Cagna di kg 10.

Ore 14,50 – Narcosi con iniezione di 120 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15 – Inizio dei tracciati. Altezza media dei riflessi mm 26.

Ore 15,10 – Iniezione di 0,5 mg di adrenalina (0,05 mg per kg del peso del corpo). I riflessi diventano molto irregolari e diminuiscono d'ampiezza del 35 % circa ; gradualmente vanno poi aumentando sino a raggiungere, 20' dopo l'iniezione, una altezza di 30 mm che rimane costante.

Ore 16 – Iniezione di 0,25 mg di adrenalina. Nuova diminuzione dell'altezza dei riflessi del 30 % circa e graduale aumento in 45' dall'iniezione fino all'altezza primitiva.

Ore 17 – Iniezione di 4,5 mg di pilocarpina. I riflessi si mantengono regolari per circa 10' e poi presentano una leggera diminuzione del 15 % circa. Insorgono poi contrazioni tonico–cloniche diffuse che si fanno in seguito più violente e impediscono l' ulteriore registrazione dei riflessi.

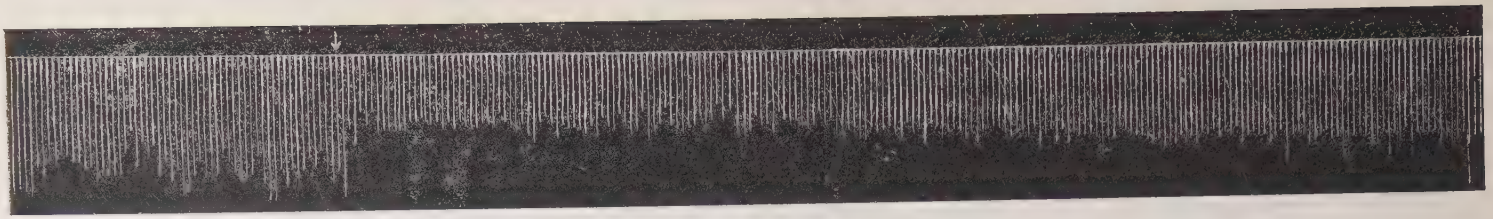


Fig. 2 (ridotta a 3/7 dell'originale). — Esper. II. — 23-V-928. Cagna di kg 16.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 1,6 mg di adrenalina (0,1 mg per kg del peso del corpo).

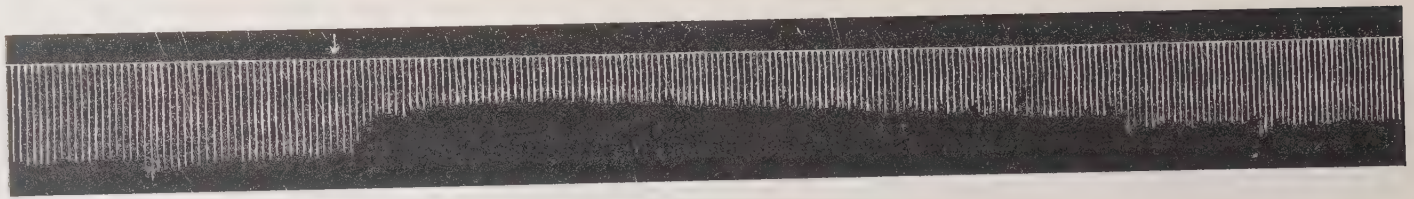


Fig. 3 (ridotta a 3/7 dell'originale). — Esper. V. — 16-VI-928. Cagna di kg 15.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 0,5 mg di adrenalina (0,03 mg per kg del peso del corpo).

Esper. V: 16-VI-1928. — Cagna di kg 15.

Ore 15,45 - Narcosi con iniezione di 180 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15,50 - Inizio dei tracciati. Ampiezza dei riflessi mm 30.

Ore 16,10 - Iniezione di 0,5 mg di cloridrato di adrenalina (0,03 mg per kg del peso del corpo). Dopo 20" evidentissima diminuzione dell'altezza dei riflessi fino a 15 mm (diminuzione del 50 %). Tale diminuzione persiste per circa 20'. I riflessi aumentano poi gradualmente senza giungere all'altezza primitiva (fig. 3).

Ore 16,50 - Altra iniezione di 50 cm³ della soluzione di cloralosio, perchè l'animale sta per svegliarsi.

Ore 17 - Ampiezza media dei riflessi mm 30. Iniezione di 5,5 mg di pilocarpina. Abbondante secrezione salivare. L'ampiezza dei riflessi diminuisce del 18 % circa. Ampie contrazioni tonico-cloniche.

Esper. VI: 21-VI-1928. — Cagna di kg 20.

Ore 15,15 - Narcosi con iniezione di 250 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15,25 - Inizio della registrazione del riflesso patellare. Altezza media mm 18.

Ore 15,40 - Iniezione di 0,02 mg di adrenalina (0,001 mg per kg del corpo). Dopo 30" evidente diminuzione dell'altezza dei riflessi sino a 10 mm (diminuzione del 45 % circa). Dopo circa 10' i riflessi incominciano ad aumentare per tornare alla norma in circa 20' (fig. 4).

Ore 16 - Iniezione di 40 mg di solfato d'atropina (2 mg per kg del peso del corpo). Non si osserva nessuna modificazione dei riflessi.

Ore 16,30 - Altra iniezione di 200 mg di solfato d'atropina (10 mg per kg del peso del corpo). Dopo circa 1' manifesta diminuzione dell'ampiezza dei riflessi del 40 % circa. Tale diminuzione va gradatamente accentuandosi sino alla scomparsa completa del riflesso. Dopo 15' si ha la ricomparsa dei riflessi. Infine questi si fanno manifesti, ma sono molto irregolari (fig. 5).

Esper. VII: 27-VI-1928. — Cagna di kg 10.

Ore 16 - Narcosi con iniezione di 130 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare. Altezza media dei riflessi 26 mm.

Ore 16,30 - Iniezione di 0,01 mg di adrenalina (0,001 mg per kg del peso del corpo). Leggera diminuzione dell'ampiezza dei riflessi (10 %). In 10' dall'iniezione i riflessi tornano alla norma.

Ore 16,50 - Iniezione di 20 mg di solfato d'atropina (2 mg per kg del peso del corpo). Si osservano alcune contrazioni tonico-cloniche, ma nessuna variazione dell'ampiezza dei riflessi.

Ore 17,15 - Iniezione di 100 mg di solfato d'atropina (10 mg per kg del peso del corpo). Immediatamente dopo l'iniezione si hanno alcune forti contrazioni toniche. Per 5' i riflessi sono regolari, ma poi l'animale improvvisamente muore.

Esper. VIII: 3-VII-1928. — Cagna di kg 13.

Ore 15,30 - Narcosi con iniezione di 160 cm³ della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15,40 - Inizio dei tracciati. Ampiezza media dei riflessi mm 34.

Ore 15,55 - Iniezione di 6,5 mg di pilocarpina (0,5 mg per kg del peso del corpo). Dopo circa 40" dall'iniezione i riflessi incomin-

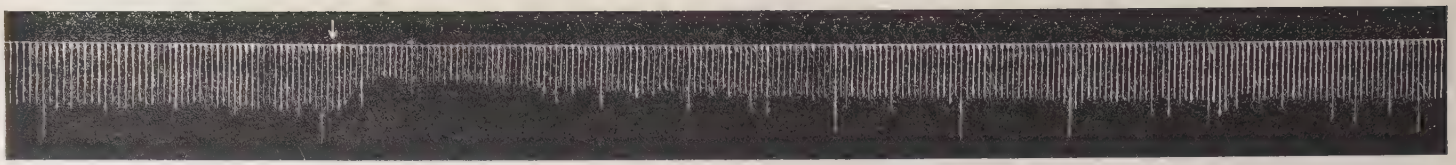


Fig. 4 (ridotta a 3/7 dell'originale). — Esper. VI. -- 21-VI-928. Cagna di kg 20.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 0,02 mg di adrenalina (0,001 mg per kg del peso del corpo).

Fig. 5 (ridotta a 3/7 dell'originale). — Esper. VI. -- 21-VI-928. Cagna di kg 20.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 200 mg di atropina (10 mg per kg del peso del corpo). Intervallo fra il 1° e il 2° tracciato = 13' 30".

ciano a diminuire d'ampiezza fino a raggiungere un'altezza media di mm 28 (diminuzione del 18 %), che rimane costante (fig. 6).

Ore 16,30 – Iniezione di 13 mg di pilocarpina (1 mg per kg del peso del corpo). Nessuna variazione nell'ampiezza dei riflessi. Dopo 5' circa il cane improvvisamente muore.

Esper. IX: 5-VII-1928. — Cagna di kg 13.

Ore 14,50 – Narcosi con iniezione di 160 cm^3 della soluzione di cloralosio nella giugulare.

Ore 15,5 – Inizio dei tracciati. Riflessi irregolari, ampiezza media mm 25.

Ore 15,15 – Iniezione di 26 mg di solfato d'atropina (2 mg per kg pel peso del corpo). Nessuna variazione dell'ampiezza dei r.flessi.

Ore 15,50 – Iniezione di 130 mg di solfato d'atropina (10 mg per kg del peso del corpo). Immediata diminuzione nell' ampiezza dei riflessi. Altezza media 18 mm (diminuzione del 28 % circa) che rimane costante.

Ore 16 – Nuova iniezione di 130 mg di solfato d'atropina. Nuova rapida diminuzione dell'ampiezza del riflesso fino alla scomparsa completa in 2'40". Dopo 20" i riflessi ricompaiono con una altezza di 4 mm, vanno poi aumentando fino ad una altezza media di 22 mm. L'ampiezza torna poi a diminuire fino a 10 mm (diminuzione del 60 % della primitiva).

Ore 16,50 – L'ampiezza del riflesso aumenta gradualmente e ritorna alla norma (fig. 7).

Fig. 6 (ridotta a 3/7 dell'originale). — Esper. VIII. -- 3-VII-928. Cagna di kg 13.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 6,5 mg di pilocarpina (0,5 mg per kg del peso del corpo).

Fig. 7 (ridotta a 3/7 dell'originale) — Esper. IX. -- 5-VII-928. Cagna di kg 13.
Riflesso patellare provocato con stimoli susseguentisi a intervalli di 8". In corrispondenza della freccia si iniettano nella giugulare 130 mg di atropina (10 mg per kg del peso del corpo). Intervallo fra il 1° e il 2° tracciato = 35'.

IV. — Discussione dei risultati sperimentali.

Esaminiamo ora i tracciati ottenuti nei singoli esperimenti e prendiamo in considerazione anzitutto quanto riguarda l'adrenalina.

Come risulta dai tracciati, in seguito all'iniezione endovenosa di adrenalina si produce costantemente una diminuzione dell' ampiezza del riflesso patellare. Tale diminuzione varia d'intensità e di durata a seconda degli animali e della quantità di adrenalina iniettata e può giungere fino al 45–50 %. Poichè, come si è detto più sopra, l'intensità del riflesso patellare varia nello stesso senso che il tono muscolare e, poichè la adrenalina è un'eccitante specifico del simpatico, i risultati ottenuti coll'iniezione di adrenalina stanno decisamente contro la dottrina, secondo la quale il tono dei muscoli striati dipende dal simpatico e sarebbero invece in favore dell'altra dottrina, secondo la quale il simpatico esercita una azione inibitrice sul tono muscolare.

Ma, secondo quest' ultima dottrina, il tono stesso dipenderebbe dal parasimpatico. È logico perciò ricercare se il riflesso patellare aumenta per eccitamento dei parasimpatico. Ecco perchè io estesi i miei esperimenti anche all'azione della pilocarpina, che, come è noto, è appunto un'eccitante del parasimpatico.

Ma, se si esaminano i risultati ottenuti con la pilocarpina, si osserva una diminuzione dell'ampiezza del riflesso rotuleo, benchè lieve (18 %) e transitoria, e non un aumento, come sarebbe da aspettarsi se il tono muscolare dipendesse dal parasimpatico.

D'altra parte i risultati degli esperimenti da me eseguiti con l'atropina potrebbero far pensare che veramente il tono muscolare dipenda dal parasimpatico. Infatti, dopo iniezione endovenosa di atropina, che agisce elettivamente sul parasimpatico paralizzandone le terminazioni, l'ampiezza del riflesso patellare subisce una diminuzione che, per dosi di 2 mg per kg del peso del corpo, è solo apprezzabile, ma, per dosi di 10 mg per kg del peso del corpo, giunge fino all'abolizione temporanea ma completa del riflesso.

Concludendo, di fronte a risultati così contradittori, non è possibile mettere in rapporto il tono dei muscoli striati nè con l' innervazione simpatica, nè con quella parasimpatica. Le variazioni dell'ampiezza del riflesso rotuleo, da me osservate in seguito ad iniezioni di adrenalina, pilocarpina o atropina, possono invece benissimo venire spiegate senza che sia necessario ammettere un'azione del sistema nervoso autonomo sul tono dei muscoli striati.

Infatti la costante diminuzione dell' ampiezza del riflesso, dopo iniezioni di adrenalina, è dovuta con tutta probabilità all'azione vasocostrittrice esercitata da questa sostanza e dalla conseguente anemia dei centri riflessi. Nè si può obbiettare che l'azione vasocostrittrice è di breve durata, mentre la diminuzione dell' ampiezza del riflesso dura molto a lungo, perchè, come è noto, una diminuzione anche di breve durata dell' afflusso sanguigno ai centri nervosi determina in questi alterazioni della funzione, che permangono per molto tempo e scompaiono solo molto lentamente.

Per quanto riguarda la pilocarpina, poichè la dose adoperata era abbastanza elevata, tanto che parecchi animali per una dose solo di poco maggiore morirono, si può ammettere che la diminuzione constatata dell'ampiezza del riflesso sia dovuta ad una depressione dell'eccitabilità dei centri nervosi riflessi esercitata da una dose prossima a quella mortale.

Infine la diminuzione o la scomparsa temporanea del riflesso patellare in seguito all' iniezione di atropina si può facilmente spiegare coll'azione eccitante che questo alcaloide esercita sul cervello, come dimostrò ALBERTONI (12). Si può infatti pensare che l'atropina estenda la sua azione eccitante anche ai centri inibitori dei riflessi esistenti nella corteccia cerebrale e possa perciò determinare, a seconda delle dosi, o una semplice diminuzione dell' ampiezza del riflesso patellare o addirittura una scomparsa completa.

V. — CONCLUSIONI.

1. — Le variazioni dell'ampiezza (consistenti sempre in una diminuzione) del riflesso patellare prodotte da iniezioni endovenose di adrenalina, pilocarpina o atropina non sono affatto in favore delle dottrine, secondo le quali il tono dei muscoli striati dipende dal sistema nervoso autonomo (simpatico o parasimpatico).

2. — La diminuzione dell'ampiezza del riflesso patellare prodotta dall'adrenalina è dovuta con tutta probabilità all'azione vasocostrittrice esercitata da questa sostanza e alla conseguente anemia dei centri riflessi.

3. — Il medesimo risultato ottenuto con la pilocarpina può essere dovuto ad una diminuzione dell'eccitabilità dei centri riflessi esercitata dalla dose usata, prossima a quella mortale.

4. — La diminuzione o la scomparsa temporanea del riflesso

patellare, in seguito ad iniezioni di atropina, si può attribuire all'azione eccitante di questo alcaloide sulla corteccia cerebrale e quindi anche sui centri inibitori dei riflessi ivi esistenti.

VI. — Bibliografia.

(1) de Boer, S. — Die quergestreiften Muskeln erhalten ihre tonische Innervation mittelst der Verbindungsäste des Sympathikus (thorakales autonomes Systems). *Fol. neurobiol.*, 1913, **7**, 378.

(2) — — Ueber den Skelettmuskeltonus. 2. Mitt. Die toniche Innervation der quergestreiften Muskeln bei Warmblütern. *Ibidem*, 1913, **7**, 837.

(3) — — Die Bedeutung der tonischen Innervation für die Funktion der quergestreiften Muskeln. *Zeitschr. f. Biol.*, 1915, **65**, 239.

(4) Frank, E. — Die parasympathische Innervation der quergestreiften Muskulatur und ihre klinische Bedeutung. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1920, **57**, 725.

(5) Schäffer, H. — Skelettmuskel und autonomes Nervensystem. Nach Untersuchungen über die Tiegelsche Contractur am Menschen. *Ibidem*, 1920, **57**, 728.

(6) — — Beiträge zur Frage der autonomen Innervation des Skelettmuskels. I. Ueber die Tiegelsche Contractur beim Menschen. *Pflüger's Arch.*, 1920, **185**, 42.

(7) Tuttle, W. W. — The effect of adrenalin upon the patellar tendon reflex. *Americ. Journ. of Physiol.*, 1924, **69**, 446.

(8) Kanavel, A. B., Pollock L. J. and Davis, L. — Relation of the sympathetic nervous system to muscle tone. Experimental and clinical observations. *Arch. of neur. a. psychiatry*, 1925, **13**, 197.

(9) Huggett, A. S. G. and Mellanby, J. — The influence of the sympathetic, parasympathetic and somatic systems of nerves on the tonus of muscle in the intact and decerebrate cat. *Journ. of Physiol.*, 1925, **60**, VIII.

(10) Kuré, K., Kimura, N. und Tsuji, M. — Klinischer Beitrag über den autonomen Muskeltonus. *Klin. Wochenschr.*, 1927, **6**, 1229.

(11) Perrini, F. — Influenza del lavoro muscolare sul riflesso patellare. Questo *Archivio*, 1928, **11**, 28.

(12) Albertoni, A. — Azione di alcune sostanze medicamentose sull'eccitabilità del cervello e contributo alla terapia dell'epilessia. *Lo Sperimentale*, 1881, **35**, 257.

SUR LES VARIATIONS DE LA TEMPÉRATURE DE LA GLANDE SOUS-MAXILLAIRE DURANT LA SÉCRÉTION (*)

TULLIO GAYDA

(Directeur du Laboratoire de Physiologie de la R. Université de Pavia)

RÉSUMÉ DE L'A.

La question de la production de chaleur de la part des glandes salivaires n'est pas encore définie. Les premières recherches remontent à LUDWIG et SPIESS qui mirent en confrontation, moyennant un thermomultiplicateur, la T de la salive de la glande sous-maxillaire avec celle du sang carotidien (chien). Une soudure d'une pile fer-argentan était placée dans une canule de laiton inserée dans la carotide, de façon qu'elle eût à se trouver dans le courant sanguin; l'autre était placée dans une canule introduite dans le conduit salivaire. Ils eurent à constater que, durant la sécrétion (stimulation de la corde du tympan), la salive devient plus chaude que le sang de la carotide.

Quelque temps après, LUDWIG se servit des thermomètres de Geissler, qui lui permettaient d'apprécier avec exactitude 0°,05 C. Il mesura non seulement la T du sang carotidien et celle de la salive, mais aussi celle du sang veineux de la glande. Il trouva que, durant la sécrétion, la différence entre la T de la salive et celle du sang artériel peut atteindre 1°,5 C. La sang veineux de la gl. active est plus chaud que celui de la gl. à repos. Sa T peut s'élever au-dessus, non seulement de celle du sang artériel, mais aussi de celle de la salive.

Les expériences de C. BERNARD ne font qu'appuyer ces faits. Il introduisit un thermomètre dans la jugulaire d'un chien tout près de la veine de la gl. sous-max. et vit augmenter constamment la T du sang durant la sécr. de la salive. En introduisant des aiguilles thermoélectriques dans le tissu des glandes sous-m. des deux côtés, C. BERNARD constata que les T des glandes à repos sont à peu près égales; mais, durant la stimulation de la corde du tym-

---

(*) *Archivio di Scienze Biologiche*, XI, 391-413, 1928. — Pour la Bibliographie voir le travail complet.

avec exactitude 0°,01 C avec la pile à un seul élément et 0°, 001 C avec celle à 10 éléments.

Suivant que je voulais expérimenter sur deux glandes sous-m. ou sur une seule, je continuais la préparation de l'animal des deux côtés ou d'une seule. Dans ce but je mettais à découvert la gl. sous-m. et l'isolais autant que possible en épargnant toutes les connexions vasculaires et nerveuses. J'introduisais ensuite une canule salivaire dans le conduit de la gl. qui devait être stimulée.

Quand je voulais stimuler la c. d. t., j'isolais, du même côté où j'avais préparé le conduit, le nerf lingual et la c. d. t.; et je coupais le lingual le plus que possible au-dessus du point d'où part la c. d. tympan. Je liais un fil au moignon périphérique du nerf, tout près du point sectionné, et je coupais encore le nerf au-dessous de la corde. Je plaçais ensuite le segment du nerf lingual qui en résultait sur 2 électrodes de platine et l'y fixais par un fil. Ces électrodes étaient insérés dans le circuit secondaire d'un appareil d'induction, dont le circuit primaire était alimenté par 2 accumulateurs. Ces mêmes électrodes étaient tenus soulevés, moyennant un soutien fait exprès, de façon qu' ils n'eussent pas à toucher les tissus de l'animal, et que le seul point de conjonction entre eux et les tissus fût représenté par la mince corde du tympan. Quand je voulais stimuler le symp. je suivais le même procédé et les mêmes précautions adoptés dans la préparation du lingual et de la c. d. tympan.

Pour mesurer la quantité de salive, je me servais d'un dispositif particulier, qui communiquait, moyennant un tube de gomme, avec la canule salivaire, et dans lequel la salive qui coulait de la gl., à la suite de la stimulation des nerfs, faisait monter de l'eau dans une pipette graduée.

Ayant placé la pile thermo-électrique et l'excitateur du nerf, je fermais toujours avec des pinces la blessure cutanée, et la protégeait par du coton. D'ailleurs la T ambiante n'était jamais au-dessous de 20°C, parce que les premières expériences furent poursuivies au mois de mars, et la chambre était artificiellement chauffée, et les dernières dans la seconde moitié de mai et dans le mois de juin.

Ayant relié la pile thermoélectrique avec le galvanomètre, je déterminais tout d'abord la différence entre la T de la gl. préparée pour la stimulation, mais encore en repos, et celle du sang carotidien, ou bien la T de l'autre gl., et puis je procédais à la stimulation des nerfs de la gl. par le courant faradique. Cette stimulation, quand elle devait durer plus de 2', n'était pas continue, mais on l'interrompait rythmiquement toutes les 2'' au moyen d'un métronome inséré dans le circuit primaire de l'appareil d'induction. Pendant toute la durée de la stimulation, et même un peu de temps après, je continuais à exécuter des déterminations de la susdite différence de T par intervalles de 30'', et moins encore, pour pouvoir suivre exactement l'allure de cette différence et la représenter ensuite graphiquement. En même temps que je déterminais cette T, je mesurai la quantité de salive sécrétée.

Avant d'étudier les variations que subit la T de la gl. sous-m. par effet de la stimulation de ses nerfs, j'ai examiné ce qu'il en est de la T de cette gl. à repos. En employant tantôt la pile à 10 éléments tantôt celle à un seul élément, j'ai observé que, tandis que les T des glandes des deux côtés, après la section bilatérale de la c. d. t., ne diffèrent pas beaucoup entre elles, la T d'une des glandes, celle ou la c. d. t. etait coupée, est constamment de 0°,3 - 0°,4 C au-dessous de celle du sang carotidien. Cela tient bien sûr au fait que le sang artériel, en passant dans les petits vaisseaux et dans les capillaires de la gl. subit une diminution do vitesse et, par conséquent, une plus grande perte de chaleur. Toujours est il que, la gl. gardant le repos, la différence entre sa T et celle de l'autre gl. ou celle du sang carotidien demeure constante, pourvu que la T ambiante soit elle-même invariée: ce qui se passait précisément dans mes expériences. Ces conditions là sont bien favorables pour pouvoir étudier comment se modifie la T de la gl. à la suite de la stimulation de ses nerfs. Voici ce que j'ai pu observer là dessus.

1. *Variations de la T de la gl. sous-m. durant la stimulation de la c. d. t.* — Si l'on stimule la c. d. t., on produit constamment une augmentation de la T de la gl.dont le nerf est excité. Souvent l'augmentation de la T est précédée d'une diminution d'une courte durée (15''- 45'') et de quelques centièmes de degré (0°,02-0°,06). Entre le moment où la stimulation s'initie et celui où la T de la gl. commence à varier, se passe toujours une période latente d'excitation de 4''-5''. La T augmente d'abord rapidement, puis toujours plus lentement avec tendance à un maximum. Si la stimulation est d'une courte durée (30''-60''), la T n'augmente que pour 1'-2' ou, tout au plus, 3' et puis reprend peu à peu sa normalité. Si la stimulation, au contraire, se prolonge plus longtemps (20'-30'), l'augmentation de la T dure aussi plus longtemps et atteint un maximum en 10'-15', après lequel la T de la gl. n'augmente davantage, mais reprend lentement sa normalité dès que la stimulation cesse.

L'augmentation absolue de la T de la gl. à la suite de la stimul. de la c. d. t. varie d'un animal à l'autre. D'ordinaire elle est de 0°,3-0°4 C. et varie dans le même animal quelque peu à mesure que varie la durée de la stimulation.

Pourtant il y a aussi des animaux chez lesquels la stimulation de la c. d. t. détermine une augmentation fort légère de la T de la gl.;

en ces derniers ce qui est efficace surtout c'est la stimul. du sympathique.

Tous ces faits-là paraissent aussi bien en mesurant la différence entre les T des deux glandes sous-m. qu'en mesurant la différence entre la T de la glande stimulée est celle du sang carotidien. Mais les résultats que donne cette dernière méthode sont plus intéressants, parce qu'ils peuvent indiquer si les variations de la T dans la gl. sous-m. relèvent de réelles variations de la production de chaleur.

Or si l'on stimule assez longtemps la c. d. t., on remarque que la T de la gl. qui — ainsi que nous le disions tout à l'heure — est, dans l'état de repos, inférieure à celle du sang carotidien, tend à s'y rendre égale sans y arriver toujours; parfois pourtant la dépasse même de quelques centièmes de degré, au maximum de 0°,06 C.

La fig. 1 représente graphiquement l'allure de la différence entre la T de la gl. et celle du sang carotidien durant la stimulation de la c. d. t.

2. *Influence de la fermeture du conduit excréteur ou des vaisseaux de la gl. sous-m. sur la T de la gl. durant la stimul. de la c. d. t.*. — Si l'augmentation de la T de la gl. sous-m. durant la stimulation de la c. d. t. ne dépendait que d'une augmentation de la production de chaleur, elle devrait être plus grande encore en suspendant l'écoulement de la salive ou l'afflux sanguin à la gl., car, en ces conditions, une partie de la chaleur produite par la gl. ne serait plus soustraite par la salive qui est sécrétée, ou par le sang qui traverse la glande. Pour résoudre cette question, dans quelques expériences je fermais tout à coup, durant la stimul., le conduit excréteur, ou bien l'artère ou les veines de la glande. Le résultat a toujours été le même: 30'' environ après la fermeture la T de la gl. commençait à diminuer, d'abord lentement, ensuite avec plus de vitesse. Si l'on ouvrait alors le conduit excréteur ou les vaisseaux, après 30'' environ, la T augmentait de nouveau, et atteignait, quelques minutes après, la hauteur primitive ou presque. Un exemple de la façon de se comporter de la T de la gl. en ces conditions est offert par la fig. 1, où sont représentés les effets de la fermeture du conduit excréteur pendant 3'.

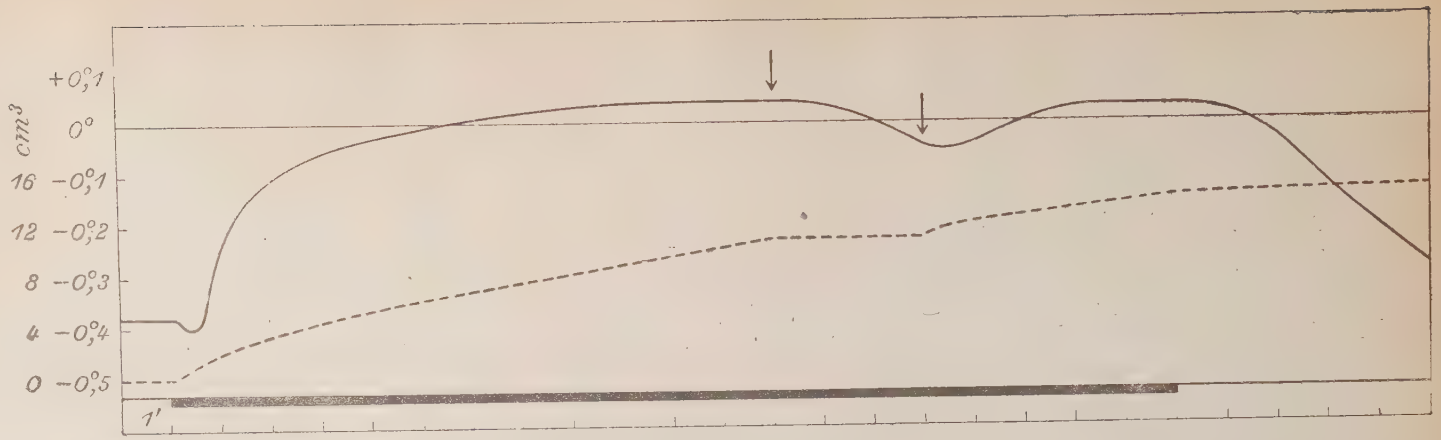


Fig. 1. Exp. XIII. 31 mai 1927. - Chienne de 15,300 Kg. Stimulation de la c. d. t.. Entre les 2 flèches le conduit excréteur de la gl. est fermé. — Dans cette fig. aussi bien que dans les suivantes, la ligne continuée représente les variations de la différence entre la T de la gl. et celle du sang carotidien; la ligne hachée représente le volume de la salive sécrétée et la grosse ligne noire la période de la stimulation ; sur l'axe des abscisse est rapporté le temps en minutes et sur l'axe des ordonnées sont rapportés le volume de la salive en cc. et la différence entre les T susdites en degrès C; les nombres négatifs indiquent que la T de la glande est inférieure à celle du sang carotidien; les nombres positifs indiquent le contraire; le 0° indique que les deux T sont égales.

3. *Variations de la T de la gl. sous-m. durant la stimulation du sympathique.* — Les variations que subit la T de la gl. sous-m. par l'effet de la stimul. du symp. sont tout à fait opposées à celles qui se vérifient dans la stimul. de la c. d. t. En effet la stimulation du symp. détermine constamment une remarquable diminution de la T de la gl. et cette diminution est souvent précédée par une augmentation d'une courte durée (15''-45'') et de quelques centièmes de degré jusqu'à 0°,2 C. Dans la stimul. du symp. aussi les variations de la T de la gl. sont précédées par un temps latent de 4''-5''. La diminution de la T se fait d'abord rapidement et puis toujours plus lentement, avec tendance à une limite. Si la stimul. ne dure que 30''-60'', la T diminue pendant 1'-3' et puis revient lentement à la normale .Si la stimulation se prolonge au delà de 10', la T continue à diminuer pendant 8'-12', jusqu'à atteindre un minimum au delà duquel elle demeure à peu près constante, pour reprendre lentement sa normalité dès que la stimulation cesse.

La diminution absolue de la T varie à mesure que varie la durée de la stimul.: si bien que, si par une stimul. de 30''-60'', la diminution de la T est de 0°1-0°,2 C, et tout au plus de 0°,3 C, elle devient, par une stimul. de 10' au moins, de 0°,5-0°,6 C. Il faut remarquer que l'effet de la stimul. du symp. est plus évident en ces animaux où la stimulation de la c. d. t. est moins efficace.

La fig. 2 représente graphiquement l'allure de la différence entre la T de la gl. et celle du sang carotidien, durant la stimul. du symp. dans l'expérience XVIII.

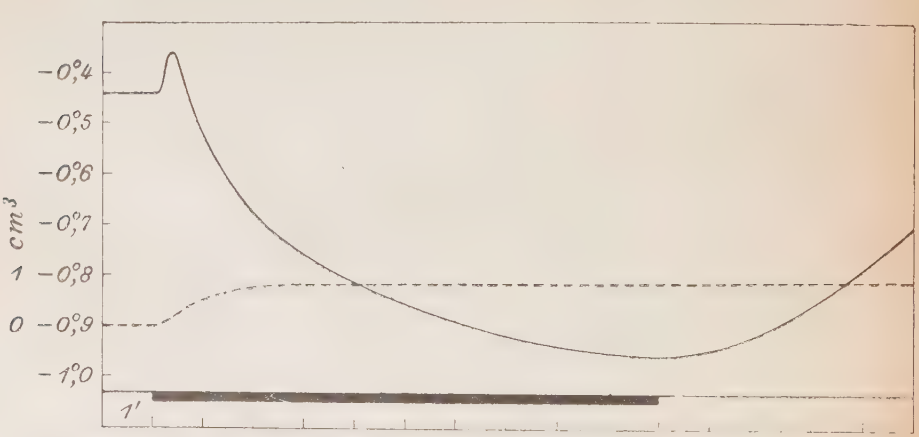


Fig. 2.— Exp. XVII. 21 juin 1927. Chienne de Kg. 13,700. Stimulation du symp..

Les variations de la T que je viens de décrire sont celles qui se vérifient régulièrement à la suite de la stimul. du sympathique. Parfois pourtant ces variations, dans les mêmes conditions et chez le même animal, ont une allure un peu différente, c'est à dire que la T de la gl. diminue d'abord, mais ensuite, après que la stimul. a cessé, elle présente une soudaine et remarquable augmentation, qui persiste durant un certain temps et s'accompagne d'une plus grande sécrétion de salive. Un exemple de cette allure nous l'offre la fig. 3, qui représente graphiquement l'allure de la différence entre la T de la gl. et celle du sang carotidien à la suite de la stimul. du symp. dans l'expér. VI, où la stimul. a déterminé d'abord les variations habituelles de la T, même fort évidentes, ainsi que nous venons de le dire; mais ensuite, en répétant la stimulation, on a toujours obtenu les variations que représente la fig. 3.

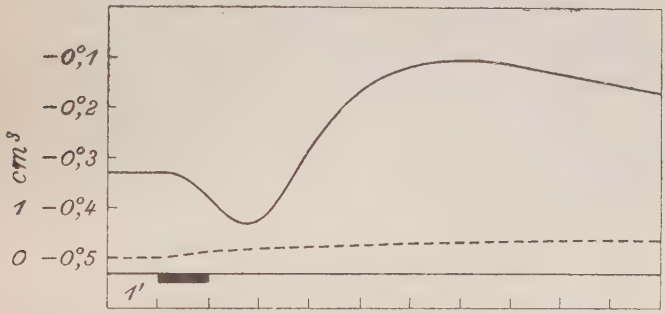


Fig. 3. — Expér. VI. 2 avril 1927. Chien de Kg. 14,500. Stimulation du sympathique.

4. *Influence de l'atropine sur la T de la gl. sous-m. durant la stimul. de la c. d. t. ou du symp.* — Après l'injection de sulfate d'atropine en dose de 2 mgr. par Kg. pratiquée dans la veine fémorale, la stimul. de la c. d. t. ne détermine plus la sécr. de salive de la part de la gl. sous-m. La stimulation du symp., au contraire, — au moins pour ce qui a trait à la dose susmentionnée — est suivie de la sécr. de salive, comme en conditions normales. Pour ce qui se rapporte à la T de la gl. après l'injection endoveineuse d'atropine, la stimulation de la c. d. t. aussi bien que celle du symp., déterminent encore dans la glande les susdites variations de T. Si ce n'est qu'il faut remarquer que ces variations, dans la stimul. de la c. d. t., après

l'injection d'atropine, sont un peu moins accentuées qu'auparavant, mais elles ne disparaissent jamais. L'influence qu'exerce l'atropine sur les variations de la T de la gl. varie pourtant d'une expérience à l'autre; l'augmentation de la T de la gl. par effet de la stimulation de la c. d. t., est réduite de 26% à 62%.

5. *Influence de la pilocarpine sur la T de la gl. sous-maxillaire.* — L'injection de chlorhydrate de pilocarpine (1 mg. par Kg.) pratiquée dans la veine fémorale, détermine, avec une abondante sécr. de salive, des variations remarquables et caractéristiques de la T de la gl. qui s'initient après un temps latent de 4"-5", à partir du moment de l'injection. Elles ressemblent d'abord parfaitement à celles que produit la stimul. de la c. d. t., c'est à dire qu'elles consistent en une augmentation de la T, souvent précédée par une diminution d'une courte durée (15"-30") et de quelques centièmes de degré (0°,02-0°,04). L'augmentation de la T ne dure pas longtemps, continue pendant 1', ou, tout au plus, 2', et puis est tout à coup suivie d'une remarquable diminution qui se prolonge longtemps parallèlement à la sécr. de la salive. L'augmentation initiale de la T est d'autant plus grande que plus grande en est la durée et varie de 0°,1 environ à un maximum de 0°,2; en aucun cas la T de la gl. n'atteint celle du sang carotidien.

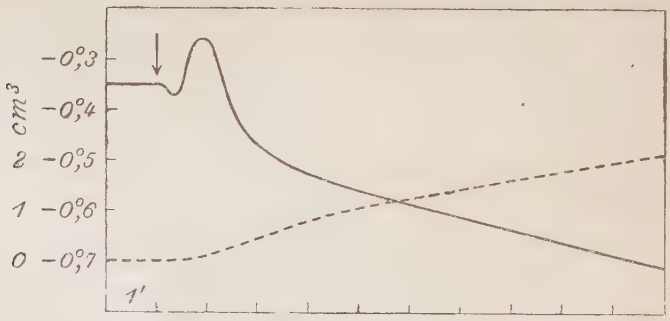


Fig. 4. Expér. XVI. 13 juin 1927. Chien de Kg. 16,800. Injection endoveineuse de pilocarpine en correspondance de la flèche.

La fig. 4 représente l'allure de la différence entre la T de la gl. et celle du sang carotidien après l'injection de pilocarpine. Cinq autres expériences ont donné, à peu près, les mêmes résultats.

* * *

Les faits que nous avons observés nous amènent à conclure que les variations de la T de la gl. sous-m. durant la sécr., dépendent presque exclusivement de variations de l'affluxe sanguin et les variations de la production de chaleur n'y jouent qu'un rôle négligeable.

L'augmentation de la T de la gl., durant la stimul. de la c. d. t., est sans doute en rapport avec l'augmentation de l'affluxe sanguin produit e par la vaso-dilatation. En effet la c. d. t. contient aussi des fibres vaso-dilatatrices qui font que, durant la stimul. de la c. d. t., l'affluxe du sang à la gl. devient de 1,7 jusqu'à 5,6 fois plus grand (BURTON-OPITZ).

Que l'augmentation de T tienne, en grande partie, à l'augmentation de l'affluxe sanguin, le prouve le fait que, si l'on ferme le conduit excréteur ou les vaisseaux de la gl., on ne remarque pas une ultérieure augmentation de la T; ce qui se passerait s'il ne s'agissait que d'une augmentation de la production de chaleur; mais on remarque, au contraire, une diminution. Celle-ci, dans le cas de la fermeture du conduit excréteur, pourrait être le résultat d'une diminution du calibre des vaisseaux, due à la compression exercée par la salive qui s'accumule dans les acinus et dans les conduits excréteurs.

Enfin la diminution de T, durant la stimul. du symp., est due surtout à une diminution de l'affluxe du sang par vaso-constriction.

Ce qui doit fixer notre attention c'est l'allure de la T de la gl. à la suite de la stimul. du symp. que l'on a remarquée dans quelques exp. où la T de la gl. a présenté une diminution et, ensuite, la stimul. cessée, une soudaine et remarquable élévation, accompagnée d'une plus grande sécr. de salive. Ce fait là nous rappelle ce que nous avons eu l'occasion d'observer dans les mêmes conditions pour le courant d'action de la gl. sous-m., à savoir que, tandis qu'en général dans la stimul. du symp. le potentiel de la surface externe de la gl. stimulée est positif vis-à-vis de celui de la surface externe de l'autre gl. à repos, parfois il peut devenir tout à coup et fortement négatif, demeurant tel durant longtemps, même après que la stimul. a cessée. Aussi dans ce cas la variation du potentiel s'accompagne d'une sécr. de salive plus abondante qu'en conditions normales. L'augmentation soudaine de la T observée dans les exp. sus-mentionnées relève probablement d'une vaso-dilatation consécutive à

la vaso-constriction initiale, et c'est l'augmentation de la sécr. qui détermine la négativité de la glande .

Un autre fait digne de remarque c'est que, chez les animaux où les variations de la T produites par la stimul. de la c. d. t. sont peu marquées, celles que produit la stimul. du symp. le sont beaucoup. C'est donc que, dans ces cas, l'excitabilité du symp. dépasse celle du nerf parasympathique.

Il faut écarter l'hypothèse que des variations de la production de chaleur de la part de la gl., liées au processus de la sécr., puissent contribuer d'une façon remarquable à déterminer les variations de T. L'augmentation de T dans la stimul. de la c. d. t. persiste encore, bien qu'en moindre degré, après l'injection d'atropine qui - ainsi qu'il est connu — abolit complètement la sécr., tandis qu'elle ne modifie pas du tout la vaso-dilatation. Au contraire — ainsi que j'ai eu l'occasion de remarquer — le courant d'action de la gl., qui se vérifie par l'effet de la stimul. de la c.d.t., est complètement aboli après l'injection d'atropine; et cela prouve que ce courant d'action est exclusivement en rapport avec le processus de la sécr. et ne dépend pas du tout des phénomènes vaso-moteurs. Mais, si l'augmentation de la T durant la stimul. de la c. d. t. est en prévalence déterminé par le plus grand affluxe de sang, on ne saurait exclure qu'elle puisse aussi tenir, ne fût ce qu'en moindre partie, à une augmentation de la production de chaleur de la part de la glande. Le fait qu'après l'injection d'atropine l'augmentation de la T, à la suite de la stimul. de la c. d. t., est moindre qu'en conditions normales, appuie déjà, par soi-même, l'idée que le processus de la sécr. s'accompagne d'une augmentation de la production de chaleur. Mais cette augmentation peut aisément se démontrer lorsque la T de la gl. en vient à dépasser celle du sang artériel. Or: c'est là le fait que j'ai observé en différents cas, mais en très petite mesure puisque la différence entre la T de la gl. et celle du sang artériel n'était que de quelques centièmes de degré, au maximum de 0°,06.

D'ailleurs, l'échange gazeux et le quotient respitatoire de la gl. à repos et durant l'activité étant connu, on peut aisément calculer, sur la base de la consommation d'O_2, la production de chaleur dans la gl. et, connaissant la capacité thermique de cette même gl., du sang qui la traverse et de la salive sécrétée, on peut calculer, avec approximation, l'augmentation de T que la gl. peut subir durant l'activité. Or les recherches de BARCROFT sur l'échange ga-

zeux de la gl. sous-m. du chien montrent que cette gl., durant le repos, consomme 0,29 cc. d'O_2 et produit 0,26 cc. de CO_2 en 1'; ce qui donne un quotient respiratoire de 0,90; dans l'activité que détermine la stimul. de la c. d. t., elle consomme 0,76 cc. d'O_2 et produit 0,93 cc. de CO_2 en 1'; ce qui fait un quotient respiratoire de 1,22. A l'appui de ces données, les valeurs caloriques de O_2 qui correspondent aux différentes valeurs du quotient respiratoire étant connues, on peut calculer la quantité de chaleur que produit la gl. en 1': elle résulte de 1,43 cal. durant le repos, et de 3,85 cal. durant l'activité. Ces quantités de chaleur donnent la mesure de la T de la gl. au repos et en activité, si l'on connaît la capacité thermique de cette même glande, du sang qui la traverse, et de la salive sécrétée. Or: la gl. sous-m. du chien pèse, en moyenne, 9 gr.; la quantité de sang qui la traverse en 1' est, suivant Barcroft, de 3 cc. durant le repos et de 15 cc. durant l'activité; la quantité de salive sécrétée en 1' peut, au maximum, être de 2 cc. La chaleur spécifique de la gl. peut se considérer pareille à 0,8; celle du sang est en moyenne 0,9 et celle de la salive, étant donné le haut pourcentage d'eau qu'elle contient, peut être considérée pareille à 1. Par conséquent la capacité thermique de la gl. est 7,2; celle du sang qui la traverse en 1' est 2,7 durant le repos et 13,5 durant l'activité, et celle de la salive sécrétée en est 2. Si l'on divise la quantité de chaleur produite par la gl. à repos pour la somme de la capacité thermique de cette même gl. et celle du sang qui la traverse en 1', on vient à connaître quelle serait l'augmentation de la T de la gl. à repos, s'il n'y avait pas perte de chaleur: cette augmentation est de 0°,14 en 1'. Si l'on fait le même calcul pour la gl. active (dans ce cas il faut adjoindre la capacité thermique de la salive sécretée à celle de la gl. et du sang qui la traverse) alors l'augmentation de T est de 0°,17 en 1'. La différence entre ces deux augmentations correspond à l'augmentation que la T de la gl. présenterait en passant de l'état de repos à celui d'activité. Elle résulte pareille à 0°,03 C en 1', ne calculant pas la perte de chaleur que subit la gl. par la conductivité des tissus environnants: c'est pourquoi en réalité cette augmentation sera encore moindre. En tout cas, elle est du même ordre de grandeur que celle que j'ai expérimentalement trouvée.

Les résultats bien différents de Ludwig et Spiess tiennent, fort probablement, au fait que dans la canule de laiton que ces AA. introduisaient dans la carotide, le sang devait rapidement coaguler et atteindre, par conséquent, une T moindre que celle de la glande.

Puisque le sang continuait à affluer à celle-ci par d'autres régions vasculaires, durant la stimul. de la c. d. t. par effet de la vaso-dilatation, la gl. et, par conséquent, la salive sécrétée pouvaient atteindre une T fort plus élevée que celle du sang carotidien coagulé et en voie de refroidissement.

Ce que l'on a dit pour la stimul. de la c. d. t. vaut aussi pour celle du sympathique. Dans ce dernier cas aussi, si la diminution de la T de la gl. est due en prévalence à la diminution de l'affluxe sanguin, on ne saurait exclure qu'elle puisse dépendre, en moindre partie, d'une diminution de la production de chaleur de la part de la glande. A l'appui de cette idée serait le fait que BARCROFT a observé: à savoir que, durant la stimul. du symp. dans le chien, l'échange gazeux de la gl. diminue remarquablement.

Il faut enfin noter les variations de la T de la gl. à la suite de l'injection de pilocarpine. Il est connu que cette substance agit en stimulant la c. d. t. soit périphériquement, soit en correspondance des centres bulbaires. Or les variations de la T de la gl. prouvent que ce n'est qu'en un premier temps qu'il s'agit d'une excitation de la c. d. t., parce que ce n'est qu'au commencement que se produit une augmentation de T, due probablement à vaso-dilatation. Mais cette augmentation est bientôt suivie d'une diminution qui dure longtemps et s'accompagne d'une sécrétion de salive. Puisqu'on ne saurait douter que cette diminution de la T dépende de vaso-constriction, il faut admettre que la pilocarpine qui, en un 1er temps, stimule aussi bien les fibres sécrétoires que les vaso-dilatatrices de la c. d. t., en un second temps — sans suspendre l'excitation des fibres sécrétoires de la c. d. t. — cesse de stimuler les fibres vaso-dilatatrices pour exercer son influence sur les fibres vaso-constrictrices du sympathique.

INFLUENCE DE L'INSULINE SUR LE POUVOIR AMYLOLYTIQUE DE LA SALIVE ET DU SANG (*).

TULLIO GAYDA

Directeur de l'Institut de Physiologie de la R. Université de Pavia.

Si les recherches relatives à l'action de l'insuline sur les différents organes et sur les différentes fonctions sont désormais nombreuses, celles, au contraire, qui tendent à fixer quelles modifications l'insuline peut produire sur les sucs digestifs ne sont que rares, incomplètes et souvent contradictoires.

C'est ainsi que — pour ce qui a trait au suc gastrique — tandis que COLLAZO et DOBREFF trouvèrent une diminution de la quantité de suc sécrété après l'administration d'insuline, SIMICI, POPESCO et DICULESCO eurent à remarquer une hypersécrétion qui s'accompagnait d'une augmentation de la quantité de HCl. Cette augmentation avait déjà été constatée par DETRE et SIVÓ, et par CASCAS de ANCIAES. D'un autre côté IVY et FISHER et WWEDENSKI n'eurent à trouver dans le suc gastrique aucune variation qualitative et quantitative.

Pour ce qui est du suc pancréatique, COLLAZO et DOBREFF trouvèrent une augmentation de la sécrétion, à la suite de l'action de l'insuline; PENAU et SIMONNET, LAMBERT et HERMANN ne constatèrent rien là-dessus.

Ce n'est qu'à propos de la bile que les AA. sont d'accord. En effet COLLAZO et DOBREFF, tout aussi bien que NITESCU et SAKURAI constatèrent une augmentation de sécrétion par effet de l'insuline.

Enfin — à propos de l'action de l'insuline sur la quantité des ferments dans les sucs digestifs — de rares recherches ont été poursuivies. CASCAS de ANCIAES trouva une augmentation de la quantité de chymase contenue dans le suc gastrique et SIMICI, POPESCO et DICULESCO remarquèrent une augmentation de la quantité de pepsine; mais FONSECA et CARVALHO ne trouvèrent aucune variation de la quantité des ferments dans le suc pancréatique et pas même dans le sérum et dans l'urine.

(*) *Archivio di Scienze Biologiche*, XII, 197-202, 1928. — Pour la Bibliographie voir le travail complet.

Puisque une action éventuelle de l'insuline sur les ferments des sucs digestifs ne paraît pas dénuée d'importance, j'ai voulu m'occuper de ce sujet, en commençant par étudier l'action de l'insuline sur le pouvoir amylolytique de la salive. Ce qui m'a suggéré ces recherches c'est le fait que l'extirpation des glandes salivaires détermine — suivant De Renzi et Reale - glycosurie et, suivant T. et M. Cahane, hyperglycémie et que, d'autre côté, la glande sous-maxillaire, ainsi qu'il résulte des recherches de Best, Smith et Scott et de Dodds et Dickens, est riche en insuline.

J'ai poursuivi mes expériences sur 7 lapins. Tout d'abord je déterminais le pouvoir amylolytique de la salive et du sérum du sang en conditions normales, puis, après avoir tenu l'animal a jeûne pendant 24 h., je lui injectais sous la peau un telle dose d'insuline qu'elle provoquait les convulsions dans l'espace de deux heures. Je determinais de nouveau, durant la période convulsive, le pouvoir amylolytique de la salive et du sérum, ensuite j'injectais sous la peau 10-12 gr. de glycose dissoute en eau, afin que l'animal se rétablît et j'administrais de nouveau la nourriture. Après 24 h., enfin, je répétais la détermination du pouvoir amylolytique de la salive et du sérum.

Pour obtenir des animaux la quantité de salive nécessaire pour les expériences, j'instillais dans le sac conjonctival d'un œil 3 gouttes d'une sol. de chlorhydrate de pilocarpine à 2%, ainsi que le conseille Kahn. Après quelques minutes, on voyait se produire une sécrétion abondante de salive, qui s'écoulait librement par gouttes hors de la bouche de l'animal. La quantité de salive, que je pouvais obtenir de la sorte, était de plusieurs cmc.; mais pour mes expériences je n'employais que les premiers 3 cmc. qui défluaient de la bouche, étant donné le fait que Ryan démontra que la concentration de l'amylase dans la salive de lapin diminue graduellement jusqu'à disparaître à mesure que la sécrétion se prolonge.

Je recueillais le sang de l'artère fémorale ou de la carotide, en quantité de 7-8 cmc., et je le centrifugeais, dès qu'il était coagulé, pour en obtenir le sérum.

Je déterminais le pouvoir amylolytique de la salive et du sérum d'après la méthode originale de Wohlgemuth. Suivant cette méthode, j'employais une sol. d'amidon soluble à 1%, que je préparais aussitôt avant l'emploi, en dissolvant l'amidon soluble à l'eau chaude, et en agitant jusqu'à ce que la sol. ne fût plus que lé-

gèrement opalescente. Cette sol. donnait avec l'iode une coloration nettemente bleue. Je plaçais ensuite dans une douzaine de tubes d'essai des quantités croissantes de salive ou de sérum, à chacune desquelles j'ajoutais 5 cmc. de la sol. d'amidon soluble. Dans le cas du sérum, j'ajoutais aussi 1 cmc. environ de toluol. Les quantités de salive ou de sérum étaient telles que chacune était toujours dans le même rapport à celle qui lui était immédiatement inférieure, de manière à constituer une progression géométrique, telle que: cmc. 0,01, 0,016, 0,025, 0,04, 0,061, 0,1... Dans cette progression le rapport est toujours pareil à 1,6. Enfin je plaçais les tubes d'essai dans un bain d'eau à 38° C, muni de thermo-régulateur à toluol. Après une permanence dans le thermostat d'une heure précise, dans le cas de la salive, ou de 24 h., dans le cas du sérum, je remplissais, jusqu'à 2 cm. environ du bord, chaque tube d'essai avec de l'eau distillée, j'ajoutais au liquide 1-2 gouttes de sol. d'iode 0,1 N, j'agitais et comparais entre elles les couleurs de chaque tube. Elles étaient différentes suivant le degré de transformation de l'amidon soluble: bleu, violet, rouge-brun et jaune. Dans le tube, où nulle trace ne restait de coloration bleue, mais rien qu'une coloration rouge-brune, tout l'amidon soluble avait été transformé en dextrines. Le minimum de quantité de la salive ou du sérum, qui était encore en mesure de déterminer cette transformation, servait à calculer l'activité du ferment. Cette activité, marquée par le symbole D_1^h dans le cas de la salive, et par D_{24}^h dans celui du sérum, était représentée par le nombre de cc. de la sol. d'amidon soluble à 1%, qui étaient transformés en dextrines par 1 cmc. de salive ou de sérum, respectivement en 1 et en 24 heures, à la température de 38° C.

J'ai employé dans les expériences l'insuline *Lilly* ou l'insuline *Ergon*. Pour obtenir les convulsions dans l'espace de 2 heures environ, il fallait injecter à l'animal 7 unités cliniques de la 1ère ou 5 de la seconde.

Les résultats des expériences sont recueillis dans le tableau.

Avant l'action de l'insuline			Durant l'action de l'insuline			Après l'action de l'insuline		
Poids du corps kg.	Salive D_1'	Sérum D_{24}''	Poids du corps kg.	Salive D_1'	Sérum D_{24}''	Poids du corps kg.	Salive D_1'	Sérum D_{24}''
2,060	8	31	1,910	63	40	2,050	5	31
2,130	13	31	2,110	78	31	2,100	16	31
2,220	20	31	2,080	125	50	2,170	31	31
2,140	31	31	2,030	200	31	2,140	40	25
2,050	3	31	1,950	50	40	2,030	8	31
1,970	25	31	1,850	78	50	1,950	31	31
3,080	31	31	2,930	156	40	3,020	50	40

Il résulte de l'examen de ce tableau que l'insuline détermine une augmentation remarquable du pouvoir amylolytique de la salive. En effet celui-ci, durant la période convulsive que provoque l'insuline, devient de 3 jusqu'à 17 fois plus grand qu'en conditions normales; l'action de l'insuline disparue, le pouvoir amylolytique rentre dans la normalité. Le pouvoir amylolytique du sérum, au contraire, n'est pas du tout influencé par l'insuline, ou présente, tout au plus, durant la période convulsive, une augmentation fort légère.

Suivant mes observations, la vitesse avec laquelle la salive est sécrétée diminue toujours remarquablement durant la période convulsive. La diminution est telle que le temps nécessaire pour recueillir les 3 cc. de salive peut doubler, et même tripler, en comparaison de celui qu'exigent les conditions normales.

C'est ainsi que dans les lapins II et VI, tandis qu'avant l'action de l'insuline ce temps était respectivement de 8'35'' et de 7' 55'', durant la période convulsive déterminée par l'insuline, il avait atteint 23'20'' et 26'25'': ce qui signifie qu'il était respectivement 2,5 et 3,3 fois plus grand qu'auparavant.

Etant donné le faible pouvoir amylolytique du sérum et les modifications négligeables qu'il présente par effet de l'insuline, il

faut exclure que la remarquable augmentation du pouvoir amylolytique de la salive produite par l'insuline puisse tenir à un passage d'amylase du sang dans la salive. Il faut aussi écarter l'hypothèse que cette augmentation dépende du jeûne de 24 heures auquel l'animal a été soumis avant l'injection d'insuline, puisque — ainsi que j'ai récemment démontré (1) — le jeûne ne modifie le pouvoir amylolytique de la salive de lapin qu'après 9 jours environ. Il est donc permis de conclure que — pour ce qui a trait à la sécrétion de l'amylase — l'insuline agit, directement ou par voie nerveuse, sur les glandes salivaires.

Au point de vue téléologique, on peut penser que l'augmentation du pouvoir amylolytique de la salive, produite par l'insuline, représente un phénomène de défense de l'organisme: c'est à dire qu'elle tient au fait que l'organisme, appauvri d'hydrates de carbone par l'action de l'insuline, réagit en augmentant la quantité d'amylase sécrétée par la salive, de façon que les polysaccharides des aliments sont plus rapidement saccharifiés et, par conséquent, utilisés.

---

(1) *Arch. di Fisiol.*, XXIV, 692, 1926.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia.*

INFLUENZA DEL DIGIUNO SULLA COMPOSIZIONE DEL SUCCO GASTRICO.

Nota I^a^.

Influenza sull'acidità e sulla quantità di pepsina.

Dott. Pietro Molteni.

(Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gaydà).

I. — Introduzione e Tecnica.

Molto scarse ed incomplete sono le ricerche eseguite sulle modificazioni che il digiuno produce nella composizione del succo gastrico.

Due soli lavori sull'argomento ho trovato nella letteratura e non certo di recente data.

Così il Pawlow (1), in un cane con esofagotomia e fistola gastrica, tenuto a digiuno, osservò, in seguito al pasto fittizio, la secrezione di succo gastrico normale in riguardo sia all'acidità, sia alla quantità di fermento contenuto e ciò persino dopo diciassette giorni di digiuno.

Il Luciani (2), studiando le modificazioni funzionali dei vari organi del digiunatore Succi, esaminò pure il comportamento della secrezione gastrica. A tal fine analizzò il liquido con cui giornalmente il Succi si lavava lo stomaco e che rigurgitava immediatamente per vomito volontario, che gli riusciva facilissimo. Per stabilire se i liquidi vomitati contenessero pepsina, il Luciani aggiungeva a due campioni di essi il 50 % di una soluzione di acido cloridrico al 2 $^0/_{00}$ e, dopo aver riscaldato fino all'ebollizione uno dei campioni e poi raffreddato, aggiungeva in entrambi una uguale quantità di fibrina ben lavata e li poneva in un termostato a 40° C. Dopo alcune ore, eseguendo la reazione del biureto sui campioni, Luciani non

trovava che traccie affatto trascurabili di peptoni in entrambi. Egli concluse perciò che durante l'inanizione ogni secrezione di succo gastrico è sospesa.

Come risulta da questi pochi dati bibliografici, non fu eseguito fin'ora uno studio sistematico dell'influenza del digiuno sulla composizione del succo gastrico, perciò, per consiglio del Prof. GAYDA, mi proposi di iniziare alcune ricerche in proposito. In questa prima Nota studiai il modo di comportarsi dell'acidità e della quantità di pepsina del succo gastrico del cane durante un digiuno di 19 giorni e durante la successiva rialimentazione.

Mi servirono quali animali da esperimento tre cani, operati di piccolo stomaco col metodo originale di PAWLOW dal Prof. GAYDA.

I cani furono tenuti a dieta idrica per cinque giorni dopo l'operazione, quindi furono alimentati con quantità crescenti di latte, fino a raggiungere un litro e un quarto di latte con pane al giorno. Tale dieta venne mantenuta costante per un certo periodo di tempo, durante il quale eseguii l'analisi del succo gastrico prima del digiuno. Alla stessa dieta furono poi sottoposti i cani nel periodo della rialimentazione. Durante il digiuno, agli animali diedi loro solo acqua da bere.

Per tutta la durata degli esperimenti lo sbocco del piccolo stomaco era ricoperto con garza e cotone asciutti, che venivano rinnovati quotidianamente ed erano tenuti in posto da un apposito grembiale; esso era così protetto dalle morsicature e dalle graffiature dell'animale.

Per ottenere la quantità di succo gastrico necessaria per l'analisi ricorsi alle iniezioni di cloridrato di istamina, che, come è noto, determina anche a digiuno una secrezione abbondante di succo gastrico.

Immobilizzato in posizione eretta, con apposito sostegno, l'animale tenuto a digiuno dalla sera precedente, procedevo all'iniezione, per via ipodermica, di istamina nella dose di 0,02 mg. per kg. del peso del corpo. Iniettavo l'istamina in questa dose, poichè è dimostrato dalle ricerche di ROTHLIN e GUNDLACH (3) che solo in tale dose l'istamina determina una secrezione di succo gastrico identico per quantità e qualità a quello prodotto da un pasto abituale. La secrezione del succo gastrico dal piccolo stomaco si iniziava un quarto d'ora circa dopo l'iniezione di istamina e durava per una mezz'ora. Raccoglievo il succo secreto in un piccolo cilindro graduato mediante un imbuto di vetro. Per essere sempre nelle stesse condizioni

avevo l'avvertenza di raccogliere costantemente la medesima quantità di succo gastrico; cioè i primi 6 cm.^{3} di succo che defluivano dal piccolo stomaco.

Del succo gastrico così ottenuto determinavo anzitutto l'acidità totale e la quantità di acido cloridrico libero mediante una soluzione $N/_{20}$ di NaOH, servendomi come indicatore della fenolftaleina, nella determinazione dell'acidità totale, e del metilorange, nella determinazione dell'acido cloridrico libero.

Determinavo poi il potere proteolitico del succo gastrico seguendo il metodo di MICHAELIS e ROTHSTEIN (4), che consiste nel ricercare quale diluizione del succo gastrico corrisponde ad una soluzione di pepsina controllo nel determinare il rischiaramento di siero intorbidato con acido solfosalicilico.

Secondo questo metodo, si diluisce 12 volte del siero di cavallo con acqua, si aggiunge agitando della soluzione di acido solfosalicilico al 10 %, fino a che la carta rosso congo si colori in violetto; il liquido ha allora un valore di pH = 2,0 — 1,8, che rappresenta l'*optimum* per l'azione della pepsina; esso è torbido come latte, ma non presenta fiocchi. Si prepara poi la soluzione di pepsina controllo sciogliendo della pepsina Grübler in 10 parti di soluzione di cloruro sodico al 10 %. Si lascia la soluzione per una settimana alla temperatura ambiente, si filtra e vi si aggiunge un'uguale quantità di glicerina. Tale soluzione si conserva indefinitamente; al momento dell'uso essa si diluisce 100 volte con acqua distillata e costituisce la soluzione di pepsina controllo.

Per determinare il potere proteolitico del succo gastrico ponevo in una serie di 10-12 tubi da saggio 1 cm.^{3} di succo gastrico diversamente diluito con acqua. Le diluizioni erano le seguenti: 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048, 4096, ecc. In un altro tubo da saggio ponevo 1 cm.^{3} della soluzione di pepsina controllo. Infine a tutti i tubi aggiungevo 2 cm.^{3} della soluzione di siero intorbidata con acido solfosalicilico e ponevo i tubi da saggio in un bagno ad acqua a 38° C, fornito di termoregolatore a toluolo. Dopo una mezz'ora circa ricercavo in quale tubo da saggio il liquido si rischiarava contemporaneamente o quasi con quello contenente la soluzione di pepsina controllo. Infine, per ottenere dati più esatti, eseguivo una seconda determinazione ponendo in quattro tubi da saggio rispettivamente 1,0; 0,8; 0,64; 0,52 cm.^{3} di quel succo gastrico diluito, che nella prima determinazione si era dimostrato appena più attivo che la soluzione di pepsina controllo, aggiungevo agli altri tre tubi da

saggio dell'acqua fino a 1 cm.^{3} ed eseguivo la seconda determinazione come la prima. Quella diluizione di succo gastrico, che determinava il rischiaramento del siero contemporaneamente alla soluzione di pepsina controllo, conteneva, secondo MICHAELIS e ROTHSTEIN, 1 unità di pepsina.

Nei miei esperimenti eseguii la determinazione dell'acidità e del potere proteolitico del succo gastrico ad intervalli di due o tre giorni tanto prima, quanto durante e dopo il digiuno.

II. — RISULTATI SPERIMENTALI.

Nelle tabelle I-III sono raccolti i risultati delle determinazioni eseguite sui tre cani sottoposti agli esperimenti.

TABELLA I. Cane N. 1.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Succo gastrico		
				Acidità totale espressa in HCl g in 1 l	HCl libero g in 1 l	Unità di pepsina
Normale	8-VI	—	8,5	3,4	2,4	10
	11-VI	—	8,0	—	—	20
	14-VI	—	8,0	3,5	2,9	20
Digiunante	18-VI	2	8,0	—	—	16
	20-VI	4	8,0	3,8	3,3	8
	23-VI	7	7,0	3,5	2,9	8
	26-VI	10	6,5	4,0	3,3	12
	30-VI	14	6,5	—	—	10
	2-VII	16	6,5	—	—	16
	4-VII	18	6,5	3,8	2,7	16
Rialimentato	6-VII	1	6,5	3,8	2,4	20
	9-VII	4	7,0	—	—	16
	11-VII	6	7,0	3,4	2,7	20
	13-VII	8	7,0	—	—	16

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

TABELLA II. Cane N. 2.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Succo gastrico: Acidità totale espressa in HCl g in 1 l	Succo gastrico: HCl libero g in 1 l	Succo gastrico: Unità di pepsina
Normale	6-VI	—	16,0	3,4	1,9	16
	8-VI	—	17,0	3,5	2.9	10
	11-VI	—	16,5	3,4	2,4	16
	13-VI	--	16,5	—	—	10
Digiunante	18-VI	2	15,0	3,3	2,4	10
	20-VI	4	14,0	—	—	10
	23-VI	7	14,0	3,8	3,3	10
	26-VI	10	13,0	4,0	2,7	12
	30-VI	14	12,0	—	—	10
	2-VII	16	12,0	4,2	2,7	10
	4-VII	18	11,5	4,4	2,9	12
Rialimentato	6 VII	1	13,0	4,6	3,3	16
	9-VII	4	14,0	3,8	2,9	16
	11-VII	6	14,0	3,7	3,3	12
	13-VII	8	14,0	—	—	16

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

TABELLA III. Cane N. 3.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Succo gastrico: Acidità totale espressa in HCl g in 1 l	Succo gastrico: HCl libero g in 1 l	Succo gastrico: Unità di pepsina
Normale	13-VI	—	14,0	3,7	2,7	6,2
	14-VI	—	14,0	3,4	2,7	6,2
Digiunante	18-VI	2	13,0	—	—	5,0
	20-VI	4	13,0	3,3	2,0	5,0
	23-VI	7	12,0	3,8	2,9	5,0
	26-VI	10	12,0	3,7	2,7	5,0
	30-VI	14	11,0	—	—	4,0
	2-VII	16	11,0	3,8	2,9	6,2
	4-VII	18	11,0	—	—	5,0
Rialimentato	6-VII	1	12,0	4,0	2,9	8,0
	9-VII	4	13,0	3,7	3,1	6,2
	11-VII	6	13,0	3,8	2,9	6,2
	13-VII	8	13,0	—	—	6,2

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

L'esame di queste tabelle dimostra che il digiuno determina solo lievi modificazioni della composizione del succo gastrico.

Il potere proteolitico subisce di regola una leggera diminuzione nei primi giorni di digiuno, ma, perdurando questo, ritorna gradatamente verso il valore normale. La rialimentazione, dopo il digiuno, non modifica ulteriormente questo valore o lo riporta alla norma se questa non era stata raggiunta alla fine del digiuno.

Più notevoli sono invece le modificazioni prodotte dal digiuno nell'acidità del succo gastrico. Infatti, come risulta dalle tabelle, tanto l'acidità totale, quanto l'acido cloridrico libero del succo gastrico subiscono un netto aumento collo stabilirsi del digiuno. Per tutta la durata del digiuno i valori dell'acidità totale e della quantità di acido cloridrico libero si mantengono elevati. La rialimentazione, dopo il digiuno, fa ritornare questi valori gradatamente alla norma.

Il fatto che la rialimentazione riporta alla norma la composizione del succo gastrico dimostra in modo indubbio che le modificazioni osservate in tale composizione dipendono effettivamente dal digiuno.

Risulta in ogni modo dai miei esperimenti che, contrariamente a quanto osservò PAWLOW (1), il digiuno non è senza influenza sulla composizione del succo gastrico. Degna di rilievo a questo proposito è la diminuzione della quantità di pepsina per effetto del digiuno. Tale diminuzione, se pur lieve e temporanea, si accorda tuttavia con quella osservata nelle stesse condizioni, in misura più notevole, per altri fermenti digestivi, quali la amilasi della saliva, come dimostrò GAYDA (5), e si accorda pure del resto colla diminuzione o colla scomparsa dal succo pancreatico dei fermenti, che agiscono normalmente su un determinato gruppo di sostanze, quando queste vengano sottratte dalla alimentazione, come risulta dalle classiche ricerche di PAWLOW (6) e della sua scuola.

III. — CONCLUSIONI.

1. — Il digiuno determina solo lievi modificazioni della composizione del succo gastrico.

2. — Il potere proteolitico del succo gastrico subisce di regola una leggera diminuzione nei primi giorni di digiuno, ma in seguito ritorna gradatamente verso il valore normale.

3. — L'acidità totale e l'acido cloridrico libero del succo gastrico subiscono un netto aumento collo stabilirsi del digiuno e per tutta la durata di questo si mantengono elevati.

4. — La rialimentazione, dopo il digiuno, riporta gradatamente alla norma la composizione del succo gastrico.

BIBLIOGRAFIA.

(1) PAWLOW J. P. Die sekretorische Arbeit des Magens bei der Carenz. « Verhandl. d. Gesellsch. russischer Aerzte in St. Petersburg », Sept. 1897. Citato da « Maly's Jahres-Ber. ü. d. Fortschritte der Thier-Chemie », XXVII, 390, 1898.

(2) LUCIANI L. Fisiologia del digiuno, 35, Firenze, 1889.

(3) ROTHLIN E. et GUNDLACH R. Étude expérimentale de l'influence de l'histamine sur la sécrétion gastrique. « Arch. internat. de Physiol. », XVII, 59, 1921.

(4) MICHAELIS L. und ROTHSTEIN M. Die Zerstörung von Lab und Pepsin durch Alkali. « Biochem. Zeitschr. », CV, 60, 1920.

(5) GAYDA T. Influenza del digiuno sul potere amilolitico della saliva. « Arch. di Fisiol. », XXIV, 692, 1926.

(6) PAWLOW J. P. Die Arbeit der Verdauungsdrüsen, Wiesbaden, 1898.

Estratto dall' *Archivio di Fisiologia.*

INFLUENZA DEL DIGIUNO SULLA COMPOSIZIONE DEL SUCCO GASTRICO.

Nota II^{a}.

Influenza sulla quantità di chimosina.

Dott. Mario Gentilli.

(Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

SCHOOLS OF MEDICINE LIBRARY

I. Introduzione e tecnica.

In continuazione delle ricerche eseguite da Molteni (1) sull'influenza che il digiuno esercita sull'acidità e sulla quantità di pepsina del succo gastrico e per consiglio del Prof. Gayda, ho studiato il modo di comportarsi della quantità di chimosina del succo gastrico durante il digiuno e durante la successiva rialimentazione.

Eseguii le ricerche sugli stessi cani, operati di piccolo stomaco col metodo di Pawlow, sui quali sperimentò il Molteni e, per armonia e comodità di studio, compii le determinazioni negli stessi giorni e sugli stessi campioni di succo gastrico raccolto dagli animali.

Per quanto riguarda il trattamento degli animali durante il periodo degli esperimenti ed il modo di raccogliere il succo gastrico, non ho che a rimandare a quanto venne esposto dal Molteni nella prima Nota. Ricorderò solo che il succo gastrico fu ottenuto mediante iniezioni ipodermiche di istamina nella dose di 0,02 mg. per kg. del peso del corpo.

Determinavo la quantità di chimosina nel succo gastrico seguendo il metodo di Michaelis e Rothstein (2), che consiste nel ricercare quale diluizione del succo gastrico corrisponde ad una soluzione di chimosina controllo nel determinare la coagulazione del latte.

Secondo questo metodo, si porta anzitutto all'ebollizione il latte che deve servire per le determinazioni, lo si raffredda e vi si aggiunge 1/10 del suo volume di una soluzione acquosa al 10 % di cloruro di calcio cristallizzato. Si prepara poi la soluzione di chimosina controllo partendo dalla stessa soluzione glicerica di pepsina, che serve per preparare la soluzione di pepsina controllo adoperata dal MOLTENI per determinare il potere proteolitico del succo gastrico. La soluzione di chimosina controllo si prepara al momento dell'uso diluendo 10.000 volte la soluzione glicerica di pepsina.

Per determinare la quantità di chimosina nel succo gastrico ponevo in 5 tubi da saggio 2 cm.^{3} di acqua, quindi aggiungevo nel primo tubo da saggio 2 cm.^{3} di succo gastrico diluito 4 volte e, dopo di avere rimescolato il liquido, toglievo da questo 2 cm.^{3} che portavo nel secondo tubo da saggio e così via. Ciascun tubo da saggio conteneva perciò la metà della quantità di fermento contenuta in quello precedente. In un sesto tubo da saggio ponevo poi 2 cm.^{3} della soluzione di chimosina controllo ed aggiungevo rapidamente in tutti i tubi 2 cm.^{3} di latte. Dopo di avere rimescolato i liquidi, ponevo i tubi da saggio in un bagno ad acqua a 15° C e ricercavo in quale tubo da saggio il latte coagulava contemporaneamente o quasi con quello trattato colla soluzione di chimosina controllo. Infine, per ottenere dati più esatti, eseguivo una seconda determinazione ponendo in 4 tubi da saggio rispettivamente 2,0; 1,6; 1,3; 1,0 cm.^{3} di quel succo gastrico diluito, che nella prima determinazione si era dimostrato appena più attivo che la soluzione di chimosina controllo, aggiungevo agli ultimi tre tubi da saggio dell'acqua fino a 2 cm.^{3} ed eseguivo la seconda determinazione come la prima. Quella diluizione di succo gastrico, che determinava la coagulazione del latte contemporaneamente alla soluzione di chimosina controllo, conteneva, secondo MICHAELIS e ROTHSTEIN, 1 unità di chimosina.

Nei miei esperimenti, come in quelli di MOLTENI, eseguii le determinazioni della quantità di chimosina del succo gastrico ad intervalli di due o tre giorni tanto prima, quanto durante e dopo il digiuno.

II. RISULTATI SPERIMENTALI.

Nelle tabelle I-III sono raccolti i risultati delle determinazioni eseguite sui tre cani sottoposti agli esperimenti.

TABELLA I. Cane N. 1.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Unità di chimosina nel succo gastrico
Normale	8-VI	—	8,5	88
	11-VI	—	8,0	88
	14-IV	—	8,0	80
Digiunante	18-IV	2	8,0	72
	20-IV	4	8,0	48
	23-VI	7	7,0	36
	26-VI	10	6,5	64
	30-VI	14	6,5	72
	2-VII	16	6,5	96
	4-VII	18	6,5	96
Rialimentato	6-VII	1	6,5	64
	9-VII	4	7,0	72
	11-VII	6	7,0	72

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

TABELLA II. Cane N. 2.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Unità di chimosina nel succo gastrico
Normale	8-VI	—	17,0	96
	11-VI	—	16,5	96
	13-VI	—	16,5	96
Digiunante	18-VI	2	15,0	56
	20-VI	4	14,0	72
	23 VI	7	14,0	36
	26-VI	10	13,0	36
	30-VI	14	12,0	48
	2-VII	16	12,0	72
	4-VII	18	11,5	72
Rialimentato	6-VII	1	13,0	72
	9-VII	4	14,0	96
	11-VII	6	14,0	96

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

TABELLA III. Cane N. 3.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorni di esperimento	Peso del corpo kg.	Unità di chimosina nel succo gastrico
Normale	13-VI	—	14,0	40
	14-VI	—	14,0	40
Digiunante	18-VI	2	13,0	32
	20-VI	4	13,0	24
	23-VI	7	12,0	18
	26-VI	10	12,0	18
	30-VI	14	11,0	12
	2-VII	16	11,0	24
	4-VII	18	11,0	24
Rialimentato	6-VII	1	12,0	48
	9-VII	4	13,0	36
	11-VII	6	13,0	36

Osservazioni. — Il digiuno si inizia il 16 giugno 1928. La rialimentazione si inizia il 5 luglio 1928.

Se si esaminano i dati contenuti in queste tabelle, si rileva che le modificazioni che il digiuno produce nella quantità di chimosina del succo gastrico sono presso a poco uguali a quelle che si verificano nelle stesse condizioni per la quantità di pepsina del succo gastrico.

Infatti la quantità di chimosina, analogamente a quanto osservò MOLTENI per la pepsina, subisce costantemente una diminuzione nei primi giorni di digiuno, ma, continuando questo, ritorna gradatamente verso la norma. La successiva rialimentazione, dopo il digiuno, non produce ulteriori modificazioni nella quantità di chimosina o la fa ritornare alla norma se questa non era stata raggiunta alla fine del digiuno.

III. Conclusioni.

La quantità di chimosina del succo gastrico, analogamente a quanto avviene per la pepsina, diminuisce nei primi giorni di digiuno, ma in seguito ritorna gradatamente verso la norma. In ogni modo questa viene raggiunta per effetto della rialimentazione dopo il digiuno.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Molteni P. Influenza del digiuno sulla composizione del succo gastrico. Nota I. Influenza sull'acidità e sulla quantità di pepsina. Questo « Archivio », XXVII, 344, 1929.

(2) Michaelis L. und Rothstein M. Die Zerstörung von Lab und Pepsin durch Alkali. « Biochem. Zeitschr. », CV, 60, 1920.

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. Tullio Gayda)

DOTT. PIETRO MOLTENI

Influenza della castrazione e del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero degli eritrociti, sulla quantità di emoglobina e sulla formula leucocitaria :: ::

I. – Introduzione e tecnica.

Dall'esame della letteratura risulta come le ricerche compiute sulle modificazioni prodotte nel sangue dalla castrazione e dall'innesto di gonadi eterosessuali siano ancora scarse.

I vari Autori, studiando l'influenza degli ormoni sessuali, si sono occupati, chi delle modificazioni del numero degli eritrociti, chi di quelle del numero dei leucociti, chi infine delle modificazioni della quantità di emoglobina, senza però compiere un esame ematico completo.

Le osservazioni eseguite su diversi animali non sono del resto concordi.

Così, mentre secondo Pinzani, Arcangeli e Ricca Barberis l'ovariectomia in donne adulte produrrebbe un aumento così del numero degli eritrociti, come della quantità di emoglobina e secondo Marchesi anche un aumento del numero dei leucociti, Lüthje non trovò nei cani alcuna modificazione del sangue dopo la castrazione.

Breuer e Seiller invece in cagne di 6–10 mesi constatarono, in seguito alla castrazione, una notevole diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina, che però era transitoria e scompariva nel corso di alcuni mesi.

Sustschowa, in ricerche eseguite nei buoi, nei maiali e nelle pecore, osservò pure dopo la castrazione una diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina.

Altri Autori estesero le loro ricerche anche all'esame morfologico dei corpuscoli del sangue.

Così Adler in donne senza ovaie o con ipofunzione di esse riscontrò una notevole diminuzione del numero degli eosinofili e Heimann accertò che un disturbo della secrezione interna delle ovaie nella donna determina un aumento del numero dei linfociti.

Antonelli, dopo la castrazione di cagne giovani, rinvenne, oltre ad una diminuzione più o meno rilevante del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina, talvolta una moderata leucopenia, linfocitosi e mononucleosi. Questi fenomeni scomparivano però in due mesi circa.

Ocaranza nelle cavie trovò una diminuzione costante del numero degli eritrociti e dei leucociti dopo la castrazione, seguita talvolta da un aumento al disopra della norma; la leucocitosi era allora dovuta ad un aumento dei neutrofili, in alcuni casi vi era anche eosinofilia. L'innesto di testicoli, praticato nei maschi castrati o no e nelle femmine gravide, diede risultati così variabili da non poterne trarre alcuna conclusione.

Blacher eseguì le sue ricerche sui galli. Egli notò anzitutto che la differenza fra maschio e femmina, per quanto riguarda il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina, è più pronunziata nel gallo che nell'uomo. Dopo la castrazione, Blacher osservò che gli eritrociti e la quantità di emoglobina diminuiscono notevolmente nel gallo, mentre nella gallina aumentano un poco. Il trapianto di una gonade in un individuo dell'altro sesso fa variare il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina in modo da corrispondere al sesso del datore.

Denecke e Josam riscontrarono che l'estirpazione dei testicoli nei cani determina, oltre ad una leucocitosi postoperatoria, anche una evidente eosinofilia, mentre nelle cagne l'estirpazione delle ovaie produce solo la leucocitosi postoperatoria. L'iniezione di estratto di ovaio produce solo nelle femmine e non nei maschi aumento dei leucociti con nucleo a bastoncino, degli eosinofili e dei monociti. Negli animali castrati la quantità di emoglobina diminuisce e rimane al di sotto della norma e il valore corpuscolare scende al di sotto di 1.

Infine Truffi, in questo Istituto, studiò l'influenza sia della castrazione, sia del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero degli eritrociti e sulla quantità di emoglobina nei conigli e giunse alla conclusione che dopo la castrazione tanto nei maschi, quanto nelle femmine non si verificano variazioni degne di nota, sia nel numero degli eritrociti, sia nella quantità di emoglobina; dopo il trapianto delle gonadi eterosessuali, invece, nelle femmine si produce un notevole aumento del numero degli eritrociti ed uno più

lieve della quantità di emoglobina; nei maschi, mentre diminuisce la quantità di emoglobina, non varia il numero degli eritrociti.

È noto che in animali della stessa specie, ma di sesso diverso, in condizioni fisiologiche esistono nette differenze nel numero dei corpuscoli del sangue e della quantità di emoglobina, così che questi valori costituiscono una caratteristica del sesso.

Così Malassez trovò nel coniglio maschio 4.540.000 dì eritrociti per mm^3 e nella femmina solo 4.160.000. Lievi sarebbero invece le differenze dei leucociti per quanto riguarda il sesso: nella femmina vi sarebbe una percentuale di leucociti polinucleati un po' minore che nel maschio [Jolly].

Poichè d'altra parte sono note le modificazioni che gli innesti omoplastici delle gonadi eterosessuali apportano ai caratteri sessuali secondari, ho effettuato, per consiglio del Prof. Gayda e in continuazione delle osservazioni già fatto da Truffi, che avevano servito più che altro di orientazione, delle ricerche sistematiche allo scopo non solo di stabilire gli effetti della castrazione sul numero degli eritrociti e dei leucociti, sulla quantità di emoglobina e sulla formula leucocitaria, ma anche di accertare se eventualmente l'innesto delle ovaie nei maschi castrati e dei testicoli nelle femmine ovariectomizzate renda la costituzione morfologica del sangue dell'ospite simile a quella dell'animale di sesso diverso, datore dell'innesto.

Mi servirono come animali da esperimento i conigli adulti (4 maschi e 4 femmine) in perfetto stato di nutrizione e di salute.

Praticavo anzitutto gli esami del sangue a distanza di due o tre giorni negli animali normali, per un periodo di venti giorni circa; indi procedevo all'estirpazione dei testicoli nei maschi e delle ovaie nelle femmine. I conigli sopportavano felicemente questi interventi, qualora si erano osservate le solite norme dell'asepsi e si erano ridotte al minimo le emorragie. Continuavo gli esami del sangue, sempre a distanza di due o tre giorni, negli animali castrati per più di un mese e procedevo quindi all'innesto delle gonadi eterosessuali. La sede scelta per l'innesto fu il sottocutaneo addominale. Per fare in modo che l'innesto avesse ad attechire bene, seguivo il metodo di Pettinari, cioè dividevo in due metà il testicolo o l'ovaio, quindi, dopo avere incisa la cute e il sottocutaneo della parete addominale, formavo una tasca laterale introducendo una pinza anatomica nella ferita e, divaricandone poi a forza le branche laceravo l'aponeurosi dei muscoli addominali e mettevo a diretto contatto con i muscoli la superficie cruentata dell'organo innestato, dopo aver spinto l'innesto il più lontano possibile dall'incisione. In due degli animali sperimentati (un maschio ed una femmina) a distanza di un mese ho ripetuto l'innesto eterosessuale. Negli animali innestati continuavo infine l'esame del sangue per qualche tempo.

Raccoglievo il sangue per gli esami dalle vene dell'orecchio. Adoperavo l'apparecchio di Bürker per il conteggio degli eritrociti e dei leucociti e l'emo-

metro di Fleischl-Miescher per il dosaggio della quantità di emoglobina. Determinavo la formula leucocitaria, dopo aver colorato gli strisci di sangue col metodo May-Grünvald-Giemsa.

II. – Risultati sperimentali.

I risultati ottenuti dalle mie ricerche sono raccolti nelle tabelle I-VI.

Prima di procedere all'esame delle tabelle, non voglio passare sotto silenzio le determinazioni eseguite su di un coniglio che, quando intervenni per l'estirpazione dei testicoli, si presentò già privato di essi, forse in seguito al morso di altri maschi, come dimostrava l'esistenza di cicatrici alle regioni inguinali.

Ora il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina in questo coniglio si mantennero sempre al di sotto dei valori riscontrati negli altri maschi, come risulta dai seguenti dati:

	Numero degli eritrociti in 1 mm.^{3} di sangue	Emoglobina in 100 cm.^{3} di sangue
23 - III - 1928	4.960.000	9,35
28 - III - 1928	4.440.000	9.36
30 - III - 1928	4.240.000	10,24
12 - IV - 1928	4.550.000	9,36
19 - IV - 1928	4.350.000	8,25

Se si esaminano ora i dati raccolti nelle tabelle, si nota anzitutto che, in condizioni normali, nel coniglio maschio il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina sono manifestamente maggiori che nella femmina. Per quanto riguarda gli eritrociti la media dei valori da me trovati è alquanto maggiore di quella riportata da Malassez, è cioè di 5.350.000 in un mm.^{3} di sangue per il maschio e di 4.850.000 per la femmina.

Per quanto riguarda il numero dei leucociti e la formula leucocitaria non vi sono differenze degne di rilievo fra i due sessi.

La castrazione nel coniglio maschio provoca una netta diminuzione nel numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina, non dà luogo nella femmina a variazioni ematiche degne di nota.

Dopo l'intervento si ha in alcuni casi una spiccata leucocitosi postoperatoria. L'esame della formula leucocitaria poi dimostra una leggera eosinofilia nel maschio e un aumento dei linfociti nella femmina, risultati che concordano con quelli di Denecke e Josam e di Heimann.

Il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, provoca nel maschio una non costante diminuzione del numero degli

eritrociti, mentre determina in tutti i casi una leggera diminuzione della quantità di emoglobina.

Nella femmina invece il trapianto produce un notevole aumento del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina.

Tutte queste variazioni dopo il trapianto sono di breve durata e dopo due o tre settimane scompaiono, probabilmente per il riassorbimento della gonade innestata. Ricompaiono invece in seguito ad un secondo innesto come nella coniglia N. 2.

I risultati ottenuti dimostrano l'importanza che gli ormoni sessuali hanno in riguardo alla costituzione morfologica del sangue. Infatti già la castrazione tende a far scomparire, almeno nel maschio, le differenze esistenti fra i due sessi, sia nel numero degli eritrociti, sia nella quantità di emoglobina. Inoltre il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, ha tendenza nei due sessi a far acquistare al sangue la costituzione morfologica propria dell'altro sesso. Questo fatto è però molto più evidente nelle femmine che nei maschi. È lecito perciò concludere che il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina devono essere considerati come caratteri sessuali secondari.

III. – Conclusioni.

1) Già in condizioni normali nel coniglio maschio il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina sono manifestamente maggiori che nella femmina. Non vi sono invece differenze degne di rilievo fra i due sessi per quanto riguarda il numero dei leucociti.

2) La castrazione nel coniglio maschio provoca una netta diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina ed una leggera eosinofilia; nella femmina produce solo un aumento dei linfociti, ma non altre variazioni ematiche degne di nota.

3) Il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, determina nel maschio una non costante diminuzione del numero degli eritrociti e una leggera diminuzione della quantità di emoglobina, nella femmina un notevole aumento del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina. Tali variazioni scompaiono in due o tre settimane, per ricomparire in seguito ad un secondo innesto.

4) La castrazione tende dunque a far scomparire, almeno nel maschio, le differenze esistenti fra i due sessi nella costituzione morfologica del sangue. Il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, ha tendenza nei due sessi a far acquistare al sangue la costituzione morfologica propria dell'altro sesso. Questo fatto dimostra l'influenza che l'ormone sessuale ha sul numero degli eritrociti e sulla quantità di emoglobina, che devono perciò essere considerati come caratteri sessuali secondari.

Bibliografia.

Pinzani — Citato da N. Pende. - Endocrinologia, 168, Milano, 1916.

Arcangeli — Idem.

Ricca Barberis — Idem.

Marchesi — Idem.

Lüthje H. — Ueber die Kastration und ihre Folge. I. Mitth. - Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., XLVIII, 184, 1902.

Breuer R. und Seiller R. F. v. — Ueber den Einfluss der Kastration auf den Blutbefund weiblicher Tiere. - Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., L 169, 1903.

Sustschowa N. — Untersuchungen über den Einfluss des Alters, Geschlechtes und der Kastration auf die Zahl der roten Blutkörperchen und den Hämoglobingehalt bei Rindern, Schweinen und Schafen. - Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 97, 1910.

Adler L. — Zur Physiologie und Pathologie der Ovarialfunktion. - Arch. f. Gynäkol., XCV, 349, 1911.

Heimann F. — Innersekretorische Funktion der Ovarien und ihre Beziehungen zu den Lymphozyten. - Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gyn., LXXIII, 538, 1913.

Antonelli G. — Ricerche sperimentali intorno agli effetti della castrazione ovarica sul sangue. - Il Policlinico, XXI, M., 97, 1914.

Ocaranza F. — Contribución experimental para el studio de la fisiologia del testiculo. Segunda memoria. - Rev. Mex. de biol,, II, 219, 1922.

Blacher L. J. — On the influence of sexual hormones upon the number of erytrocytes and percentage quantity of hemoglobine by fowl. - Biol. gen. II, 435, 1926.

Denecke und Josam — Ueber den Einfluss der Keimdrüsen auf die Blutbildung. - Verhadl. d. deutsch. Ges. f. inn. Med.. 324, 341, 1927.

Truffi G. — Influenza della castrazione e del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero delle emazie e sulla quantità di emoglobina. - Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim., II, 836, 1927.

Malassez L. Sur la richesse en hémoglobine des globules rouges du sang. - Arch. de physiol. norm. et pathol., IV, 634, 1877.

Jolly J. — Traité technique d'hématologie, 343, Paris, 1923.

Pettinari V. — Ricerche sperimentali sull'innesto di ovaia nei mammiferi. - Rivista di Biol. VIII, 141, 1926.

Coniglio N. 1 — Tab. I.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	3-II	—	2,300	5.920.000	13,05	6200	49	36	10,5	—	4,5	
	8-II	—	2,360	5.880.000	11,55	7100	51	31	15,0	0,5	2,5	
	15-II	—	2,450	5.952.000	12,39	6000	—	—	—	—	—	
	17-II	—	2,400	5.760 000	12,48	5800	54	32	11,5	1,0	1,5	
	23-II	—	2,450	5.480.000	11,20	6300	50	33	12,0	0,5	4,5	
	26-II	—	2,500	5.4[illegible]0.000	12,16	7100	52	30	14,0	1,5	2,5	
	1-III	—	2,500	5.648.000	11,16	6500	53	30	11,5	1,0	4,5	
Castrato	12-III	4	2,400	4.440.000	9,73	9900	45	37	12,0	1,5	4,5	La castrazione fu praticata il 8-III-1928.
	23-III	15	2,400	5.040.000	9,46	9800	47	38	9,5	2,0	3,5	
	28-III	20	2,400	4.560.000	10,68	8600		—	—	—	—	
	30-III	22	2,400	5.120.000	10,17	8900	49	34	12,5	2,5	2,0	
	12-IV	35	2,500	4.500.000	10,70	8400	—	—	—	—	—	
	19-IV	42	2,450	4.800.000	9,78	6400	47	34	14,5	2,0	2,5	
	21-IV	44	2,500	4.960.000	10,18	7400	49	31	15,0	2,5	2,5	
	2-V	55	2,500	5.000.000	9,46	7000	53	29	14,0	1,5	2,5	
	12-V	65	2,450	4.700 000	10,17	6800	51	32	11,5	2,0	3,5	
	17-V	70	2,500	4.950.000	10,70	7100	52	32	11,5	2,0	2,5	
Innestato	22-V	3	2,600	4.480.000	7,50	6600	48	37	10,5	1,0	3,5	L'innesto fu praticato il 19-V-1928.
	30-V	11	2,700	4 816.000	6,83	7600	50	35	9,5	2,0	3,5	
	2-VI	13	2,600	4.240.000	6,91	6200	51	32	12,5	2,5	2,0	
	5-VI	16	2,700	4.300.000	8,01	8000		—	—	—	—	
	8-VI	19	2,650	4.880.000	8,25	6200	48	34	14,0	1,5	2,5	
	14-VI	25	2,750	4.850.000	8,77	7200	—	—	—	—	—	
	19-VI	30	2,750	4.440.000	7,35	6400	51	30	14,5	2,5	2,0	

Coniglia N. 2 — Tab. II.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	5-II	—	2,800	4.792.000	11,70	6 900	60	26	12,5	0,5	1,0	
	9-II	—	2,800	4.976.000	12,92	6.500	—	—	-	—		
	15-II	—	3,050	4.640.000	12,61	7.200	47	34	14,0	1,5	3,5	
	23-II	—	3,000	4 840.000	12,91	6 280	58	29	10,0	1,5	1,5	
	25-II	—	2,950	4.700 000	11,38	6 060	42	36	20.0	0,5	1,5	
	1-III	—	3,000	4.640.000	12,50	7.000	53	33	10,0	1,5	2,5	
	7-III	—	3,000	4.650.000	12,61	6.800	57	30	9,0	1,5	2,5	
Castrata	16-III	1	2,850	4 800.000	10,14	13.000	58	30	9,0	1,5	1,5	La castrazione fu praticata il 15-III-1928.
	21-III	6	2,700	4 560.000	8,94	13.600	52	38	7,0	1,5	1,5	
	24-III	9	2,750	4.960.000	11,64	6.600	44	42	11,0	0,5	2,5	
	26-III	11	2,750	4.200.000	10,87	9.000	—	—	—	—	—	
	13-IV	29	2,850	4.560.000	8,74	9.400	42	40	11,0	2,5	4,5	
	19-IV	35	2,800	4.960.000	9,63	7.000	39	45	12,0	1,5	2,5	
	22-IV	38	2,900	4.960.000	8,55	6.400	46	35	15,0	1,5	2,5	
Innestata la 1ª volta	27-IV	2	2,800	4.720.000	7,53	11.600	55	32	8,0	2,5	2,5	Il 1° innesto fu praticato il 25-IV-1928.
	2-V	7	2,800	5.280.000	7,71	11.600	—	—	—	—	—	
	10-V	15	2,750	5.120.000	7,68	9.600	50	26	9,0	2,5	2,5	
	12-V	17	2,800	5.680.000	8,70	9.000	46	41	8,0	1,5	3,5	
	17-V	22	2,800	4.880,000	7,71	11.800	41	46	10,5	—	2,5	
	22-V	27	2,800	5.280.000	7,89	9.200	—	—	—	—	—	
	30-V	35	2,900	5.120.000	9,18	9.600	58	28	12,5	0,5	1,0	
Innestata la 2ª volta	2-VI	1	2,800	4.640.000	7,62	13.000	56	29	12,0	1,5	1,5	Il 2° innesto fu praticato il 1-VI-1928.
	5-VI	4	2,750	4 720.000	7,26	8 200	—	.			—	
	7-VI	6	2,850	5.360.000	10,41	9.800	52	34	10,0	1,5	2,5	
	14-VI	13	2,800	4.800.000	10,41	7.200	54	33	9,0	2,5	1,5	
	19-VI	18	2,900	5.000.000	9,18	8.000	54	27	9,0	1,5	2,0	
	20-VI	19	2,900	4.880.000	13,41	6.400	45	33	20,0	0,5	1,5	
	28-VI	27	2,950	4.640.000	12,92	6.900	47	40	8,0	1,5	3,5	

Coniglia N. 3 — Tab. III.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	13-IV	—	2,450	4.320.000	12,38	6800	54	24	17,0	1,5	3,5	
	19-IV	—	2,450	4.720.000	8,13	6600	47	22	27,0	0,5	3,5	
	22-IV	—	2,500	4.800.000	9,48	6200	57	29	11,0	1,5	1,5	
	29-IV	—	2,400	4.520.000	12,61	7200	–	—		—		
	2-V	—	2,480	4.740.000	11,38	7000	53	28	15,0	1,5	2,5	
	7-V	—	2,450	4.620.000	10,41	6400	—	—		—	—	
	12-V	—	2,450	4 960.000	9,18	6900	56	29	9,0	2,5	3,5	
	17-V	—	2,400	4.800.000	7,71	7800	58	28	12,5	0,5	1,0	
Castrata	22-V	3	2,450	4 850.000	11,38	7600	56	32	9,0	1,5	1,5	La castrazione fu praticata il 19-V-1928.
	28-V	9	2,400	4.620.000	9,18	6500	54	36	7,0	0,5	2,5	
	30-V	11	2,500	4.520 000	12,61	6950	48	38	11,0	0,5	2,5	
	3-VI	15	2,450	5.420.000	8,70	7400	50	32	11,0	2,5	4,5	
	5-VI	17	2,400	5.120.000	7,29	6800	49	35	12,0	1,5	2,5	
	9-VI	21	2,350	4 620 000	7,26	7200	49	35	12,0	2,5	1,5	
	12-VI	24	2,350	4.480.000	8,61	7000	59	27	12,5	0,5	1,0	
	15-VI	27	2,400	4.820.000	10,70	7400	48	28	9,0	1,5	3,5	
Innestata	20-VI	1	2,350	5.520 000	9,09	6200	53	32	12.0	1,5	1,5	L'innesto fu praticato il 19-VI-1928.
	22-VI	3	2,350	5.656 000	11,21	6400	—	—		—	—	
	26-VI	7	2,300	5.920.000	9,78	7400	54	32	11,0	1,5	1,5	
	2-VII	13	2,400	5.840.000	8,43	6600	50	37	8,0	1,5	3,5	
	4-VII	15	2,400	6.240.000	10,50	8200	60	29	8,0	1,5	1,5	
	12-VII	23	2,420	4.880.000	9,30	5200	53	30	13,0	1,5	2,5	

Coniglio N. 4 — Tab. IV.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	23-III	—	2,200	4.960,000	9,55	7400	54	31	10,5	1,0	3,5	
	28-III	—	2,100	4.440.000	9,36	7800	56	26	14,0	0,5	3,5	
	30-III	—	2,200	4.540 000	10,74	7200	51	35	11,5	1,0	1,5	
	6-IV	—	2,250	4.220.000	8,01	6800	—	—	—		—	
	9-IV		2,200	4.900.000	10,17	7300	52	33	10,0	0,5	4,5	
	12-IV	—	2,250	4.856.000	10,42	9600	56	27	13,0	1,5	2,5	
	19-IV	—	2.250	5.100.000	9,78	9200	—	—	—	—	—	
	21-IV	—	2,300	4.950.000	9,36	6800	55	30	12,5		2,5	
Castrato	27-IV	2	2,400	4.560 000	11,43	5400	54	28	12,0	2,5	3,5	La castrazione fu praticata il 25-IV-1928.
	29-IV	4	2,350	4.620.000	10,70	6900	—	—	—	—	—	
	2-V	7	2,400	4.960.000	9,04	7800	45	38	11,5	2,0	3,5	
	6-V	11	2,350	4.100.000	9,46	6300	—	—	—	—	—	
	10-V	15	2,350	4,160.000	9,98	9000	54	29	13,5	2,5	1,0	
	15-V	20	2,400	4.150.000	10,17	8200	53	31	11,5	2,0	2,5	
	22-V	27	2,300	4.400.000	9,73	7900	51	31	15,0	0,5	2,5	
	25-V	30	2,350	4.200.000	8,77	6500	58	25	13,0	1,5	2,5	
	30-V	35	2,350	4.620.000	8,25	7200	49	34	12,5	2,0	2,5	
	3-VI	39	2,300	4.880.000	9,66	7200	52	30	12,0	1,5	2,5	
Innestato	5-VI	2	2,500	3.760.000	6,02	7400	50	37	8,5	1,0	3,5	L'innesto fu praticato il 4-VI-1928.
	8-VI	4	2,600	4.800.000	8,25	6600	—	-	—	—	—	
	14-VI	8	2,600	4.000.000	8,77	6200	54	32	9,5	1,0	3,5	
	19-VI	13	2,700	5.040.000	6,27	5800	—	—		—	-	
	24-VI	18	2,700	4.960.000	9,96	6800	56	28	12,5	1,5	2,0	
	29-VI	23	2,650	4.440 000	9,78	7100	53	29	15,0	1,5	1,5	
	3-VII	27	2,700	4.720.000	10,20	7600	59	26	10,5	2.0	2,5	
	8-VII	32	2,650	4.640.000	8,88	5800	54	28	14,5	1,5	2,0	
	12-VII	36	2,700	4.320.000	10,08	4600	56	27	13,5	1,5	2,0	

Coniglia N. 5. Tab. V.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	7-VI	—	2,500	4.960.000	10.90	5600	57	27	13,5	0,5	2,0	
	17-VI	—	2,500	4.720.000	10,30	7400	51	31	13,0	1,5	3,5	
	15-VI	—	2,600	5.100.000	10,20	5400	52	29	18,0	0,5	0,5	
	18-VI	—	2,550	4.760.000	10,30	6000	—	—	—	—	—	
	22-VI	—	2,700	4 920.000	10,70	4800	59	28	10,0	1,5	1,5	
	24-VI	—	2,700	4.880.000	10,60	6200	55	29	12,0	1,5	2,5	
Castrata	28-VI	1	2,650	4.812.000	9,30	5200	56	33	8,0	1,5	1,5	La castrazione fu praticata il 27-VI-1928.
	30-VI	3	2,650	5.120.000	9,09	10 600	53	37	6.0	1,5	2,5	
	3-VII	6	2,600	6.080.000	9,99	6300	—	—	—	—	—	
	7-VII	10	2,700	4.720.000	10,50	6400	48	34	14,0	1,5	2,5	
	8-VII	11	2,600	4.620.000	10,20	10.600	43	42	12,0	1,5	1,5	
Innestata	10-VII	1	2,550	5.120.000	9,04	6600	59	28	7,0	2,5	3,5	L'innesto fu praticato il 9-VII-1928.
	12-VII	3	2,600	5.360.000	9,30	8800	48	28	11,0	1,5	1,5	
	14-VII	5	2,600	5.440.000	10,30	8600	—	—	—	—	—	
	17-VII	8	2,650	5.550.000	11,43	7500	51	36	10,5	1,5	1,5	
	20-VII	11	2,600	5.280.000	11,55	9800	56	30	12,0	0,5	1,5	
	22-VII	13	2,650	5.420.000	10,70	8500	58	27	11,0	1,5	2,5	

Coniglio N. 6. Tab. VI.

Condizioni dell'anim.	Data 1928	Giorno dell'interv.	Peso del corpo kg.	Numero degli eritrociti in 1 mm.³ di sangue	Emoglobina in 100 cm.³ di sangue g.	Numero dei leucociti in 1 mm.³ di sangue	Formula leucocitaria					Osservazioni
							Neutrofili %	Linfociti %	Monociti %	Eosinofili %	Basofili %	
Normale	9-VI	—	2,000	5.520.000	11,67	7400	59	26	10,5	1,5	3,5	
	11-VI	—	2.000	5.400.000	11,43	7200	–	–	—	–	—	
	12-VI	—	2,050	5.440.000	10,92	6800	55	27	15,0	0,5	2,5	
	15-VI	–	2,100	5.400.000	10,78	7200	51	32	14,0	0,5	2,5	
	18-VI	—	2,000	5.450.000	10,17	6900	50	33	11,0	1,5	4,5	
Castrato	20-VI	1	2,200	5.120.000	10.71	6200	50	32	14,0	1,5	2,5	La castrazione fu praticata il 19-VI-1928.
	22-VI	3	2,100	5.280.000	10,80	8800	52	33	10.5	2,5	2,0	
	24-VI	5	2,150	4.820.000	10,59	9800	—	—	—	—	—	
	26-VI	7	2,200	5.440.000	9,72	9600	54	26	15,0	2,5	2,5	
	27-VI	8	2,200	5.000.000	10,20	8600	54	30	11,5	2,0	2,5	
Innestato	28-VI	1	2,200	4.900.000	9,69	7000	58	27	11,5	1,0	2,5	L'innesto fu praticato il 27-VI-1928.
	2-VII	5	2,250	5 450.000	10,09	10.800	55	30	10,0	1.5	3,5	
	3-VII	6	2,250	4.260.000	9,78	11.400	52	31	13,5	1,5	2,0	
	8-VII	11	2,300	4.480.000	9,81	6400	—	—	—	—	—	
	10-VII	13	2,300	4.960.000	9,96	5600	54	28	14,0	1,5	2,5	
	12-VII	15	2,400	4.720.000	9,77	7800	55	26	14,5	2,5	2,0	
	17-VII	20	2,350	5.280.000	8,31	7000	57	26	12,0	0,5	4,5	
	20-VII	23	2,350	4.640.000	9,78	7500	59	27	8,5	1,0	4,5	

Résumé.

L'A. étudie l'influence de la castration et de l'implantation des gonades hétérosexuelles sur le nombre des globules rouges et blancs, sur la quantité d'hémoglobine et sur la formule leucocytaire, chez les lapins adultes des deux sexes.

Les recherches systématiques pratiquées ont montré que la castration tend à faire disparaître, du moins chez le mâle, les différences existant entre les deux sexes dans la constitution morphologique du sang; et que l'implantation des gonades hétérosexuelles, après la castration, tend a faire acquérir au sang dans les deux sexes la constitution morphologique propre à l'autre sexe. Ce fait montre l'influence que l'hormone sexuel exerce sur le nombre des globules rouges et sur la quantité d'hémoglobine, qui doivent par conséquent être considérés comme des caractères sexuels secondaires.

SULLE VARIAZIONI LOCALI DELLA PRESSIONE ARTERIOSA PER EFFETTO DELLA TEMPERATURA.

Del Dott. PASQUALE BURATTI.

(*Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia*).

SOMMARIO

I. — INTRODUZIONE . . . . . pag. 71
II. — TECNICA . . . . . » 73
III. — RISULTATI SPERIMENTALI . . . . . » 73
IV. — CONCLUSIONI. . . . . » 76
V. — BIBLIOGRAFIA . . . . . » 76

I. - INTRODUZIONE.

Parecchi autori si sono occupati delle variazioni locali della pressione arteriosa in diverse condizioni sperimentali.

MARGARIA (1,2) studiò nell'uomo le modificazioni che subisce la pressione arteriosa di un territorio, che ha compiuto un lavoro muscolare, in confronto colla pressione di un territorio mantenuto allo stato di riposo. Egli osservò che già in condizioni di riposo la pressione massima del braccio che lavora di più, generalmente il destro, supera di 5-15 mm di Hg quella dell'altro braccio. L'aumento della pressione arteriosa diventa poi più evidente dopo un lavoro muscolare intenso. In queste condizioni la pressione massima aumenta di 23,6 mm di Hg in media, mentre la pressione minima diminuisce di 11 mm di Hg in media e perciò la pressione pulsatoria aumenta di 34,6 mm di Hg. Nel braccio in riposo invece si verifica una leggera diminuzione della pressione. MARGARIA spiega le ipertensioni regionali descritte ammettendo che alla massa sanguigna proveniente dal cuore venga trasmesso, a livello del territorio che lavora, un incremento di energia per opera di un'appropriata contrazione delle pareti muscolari delle arterie. In altre parole, queste presenterebbero delle contrazioni peristaltiche immediatamente susseguenti alla sistole cardiaca, aventi l'ufficio di favorire la pro-

gressione del sangue verso la periferia. MARGARIA spiega poi la diminuzione della pressione minima, in seguito al lavoro, coll'aumento del letto vasale, che avviene nel muscolo che lavora; poichè è noto che, mentre nel muscolo in riposo la massima parte dei capillari è chiusa, nel muscolo in attività tutti i capillari diventano pervii al sangue, aumentando così la superficie di deflusso.

CERUTI (3) ricercò se si verificano variazioni regionali della pressione sanguigna per effetto dell'anemia o della stasi. Egli anemizzava un braccio avvolgendo un tubo di gomma in strette spire dalle prime falangi della mano fino al terzo superiore del braccio, oppure determinava la stasi applicando al terzo superiore del braccio un manicotto pneumatico in cui insufflava dell'aria. CERUTI trovò nel braccio anemizzato un aumento della pressione massima e una diminuzione della pressione minima, se l'anemia si prolungava per oltre 10', mentre nell'altro braccio con irrorazione sanguigna normale la pressione massima subiva un lieve aumento di breve durata. Dopo la stasi CERUTI constatò una diminuzione subitanea della pressione minima, mentre la pressione massima diminuiva dopo qualche minuto. I fatti osservati dopo l'anemia sono attribuiti dal CERUTI ad una contrazione della tunica muscolare delle arterie, quelli conseguenti alla stasi sono riferiti ad un aumento del letto vasale.

MENNYEY (4) studiò le variazioni della pressione arteriosa in un arto sottoposto all'azione del bagno di luce, mentre l'altro arto era tenuto in condizioni normali, e constatò che nel primo aumentavano la pressione massima e quella pulsatoria; anche la pressione minima aumentava, ma in misura insignificante. Nell'altro arto non sottoposto all'azione del bagno di luce si verificava una diminuzione della pressione massima, di quella minima e di quella pulsatoria in misura trascurabile. Anche MENNYEY attribuì l'aumento della pressione massima e di quella pulsatoria nell'arto esposto al bagno di luce ad una contrazione peristaltica delle arterie.

Per consiglio del Prof. GAYDA, mi proposi di studiare le variazioni locali della pressione arteriosa sottoponendo un solo arto a variazioni della temperatura ambiente, mentre l'altro era mantenuto in condizioni normali.

II. - Tecnica.

Gli esperimenti consistevano nel fare immergere al soggetto in esame tutto un arto superiore, per un tempo determinato, in un bagno d'acqua portata ad una temperatura maggiore o minore di quella del corpo e nel misurare, immediatamente prima e immediatamente dopo l'immersione dell'arto, la pressione arteriosa in entrambi gli arti superiori.

L'arto era tenuto immerso in un recipiente di notevole capacità e abbastanza alto che esso vi poteva essere tutto contenuto. Per tutta la durata dell'immersione la temperatura dell'acqua era mantenuta costante Le temperature più elevate, che furono sperimentate, variavano fra 40° e 50° C e la durata dell'immersione era diversa a seconda della resistenza individuale e più precisamente variava fra 20' e 60', per le temperature fra 40° e 45° C, ma solo fra 4' e 5' per la temperatura di 50° C. Le temperature più basse variavano fra 4° e 13° C e la durata dell'immersione variava fra 15' e 30'.

Per misurare la pressione arteriosa massima e quella minima mi servivo sempre dell'oscillometro di Pachon.

Gli esperimenti furono eseguiti su individui giovani dell'età fra 19 e 25 anni. Tranne in un caso, in cui il soggetto era di professione spaccalegna ed aveva 57 anni, in tutti gli altri i soggetti erano studenti. Tutti i soggetti esaminati erano in perfette condizioni fisiologiche.

III. - Risultati sperimentali.

Raccolgo nelle tabelle I e II i risultati ottenuti dalla misurazione della pressione arteriosa di entrambi gli arti superiori, prima e dopo di avere sottoposto uno di questi rispettivamente a temperature maggiori o minori di quella del corpo.

I dati contenuti nella tabella I dimostrano che, dopo l'immersione di un arto nell'acqua calda, in questo si producono costantemente un aumento della pressione massima di 5-25 mm di Hg e una diminuzione della pressione minima di 5-20 mm di Hg, così che la pressione pulsatoria aumenta di 20-45 mm di Hg. Nell'altro arto lasciato in condizioni normali non si verificano che variazioni trascurabili della pressione arteriosa.

L'aumento della pressione massima e quello della pressione pul-

satoria diventano più notevoli col crescere della temperatura; invece la diminuzione della pressione minima non presenta alcun parallelismo col crescere della temperatura.

Inoltre l'aumento della pressione massima e quello della pressione pulsatoria diventano maggiori coll'aumentare della durata dell'immersione. Ciò succede però solo se la temperatura del bagno è elevata (45°-50° C), a 40° C la durata dell'immersione non influenza sensibilmente l'aumento della pressione massima e della pressione pulsatoria. La diminuzione della pressione minima invece non presenta variazioni degne di nota col variare della durata dell'immersione, qualunque sia la temperatura.

E' da notare il risultato dell'esperimento XVII, eseguito il 24 maggio 1927 sul soggetto T. G. di 57 anni: in tale esperimento, benchè la temperatura del bagno fosse 45° C e la durata dell'immersione fosse stata di 25', le variazioni della pressione, pur concordando con quelle riscontrate in altri soggetti, furono molto lievi.

Dall'esame della tabella II poi risulta che, dopo l'immersione di un arto nell'acqua fredda, in questo si producono costantemente una diminuzione della pressione massima di 5-20 mm di Hg ed un aumento della pressione minima di 5-15 mm di Hg, così che la pressione pulsatoria diminuisce di 5-30 mm di Hg. Anche dopo il bagno freddo di un arto, come dopo quello caldo, nell'altro arto lasciato in condizioni normali non si producono praticamente variazioni della pressione arteriosa.

A differenza di quanto succede dopo il bagno caldo, le variazioni della pressione, che si riscontrano dopo il bagno freddo, non presentano alcun parallelismo col diminuire della temperatura del bagno o coll'aumentare della durata dell'immersione.

Tutto quanto si è detto a proposito del bagno freddo si verifica colle stesse particolarità anche nelle donne (esperimenti XXVII, XXVIII, XXXI, XXXIV e XXXV).

Nell'esperimento XXX il soggetto in esame, dopo l'immersione dell'arto nell'acqua a 6° C per 15', fu colto da forte tremore e da malessere generale; in queste condizioni presentò notevole diminuzione sia della pressione massima, sia della pressione minima ed una leggera diminuzione anche della pressione pulsatoria in entrambi gli arti, in grado maggiore però nell'arto raffreddato.

L'aumento della pressione massima, che si osserva in un arto solo, dopo l'immersione di questo nell'acqua calda, in accordo con

quanto ammisero altri autori (MARGARIA, CERUTI, MENNYEY) in condizioni analoghe, non può essere attribuito che ad un aumento delle contrazioni ritmiche della tunica muscolare delle arterie, aumento che è tanto più pronunziato, quanto maggiori sono la temperatura del bagno e la durata dell'immersione. L'effetto di tali contrazioni muscolari si sommerebbe con quello della sistole cardiaca e perciò la pressione aumenterebbe.

La diminuzione della pressione minima, che si produce nell'arto dopo l'immersione nell'acqua calda, può essere spiegata, con MARGARIA e CERUTI, coll'aumento dell'ampiezza del letto vasale nella regione sottoposta a temperatura elevata. Questa fa sì che i capillari, che in condizioni normali sono per la maggior parte chiusi, divengono tutti pervii; aumenta perciò l'ampiezza del letto vasale e diminuisce per conseguenza localmente la pressione minima. Il fatto che la diminuzione della pressione minima non segue il crescere della temperatura del bagno e della durata dell'immersione può essere spiegato ammettendo che, dal momento in cui sono divenuti pervii tutti i capillari, l'aumento ulteriore della temperatura o della durata della sua azione non è più in grado di modificare sensibilmente la vasodilatazione e quindi la pressione minima.

Dopo l'immersione di un arto nell'acqua fredda, si osserva in questo perfettamente l'opposto di quanto si verifica dopo l'immersione nell'acqua calda e cioè diminuisce la pressione massima, mentre aumenta la pressione minima. Questi fatti si possono spiegare con un meccanismo analogo a quello invocato a proposito del riscaldamento. Si può cioè ammettere che la diminuzione locale della pressione massima sia dovuta ad una diminuzione delle contrazioni ritmiche della tunica muscolare delle arterie e l'aumento locale della pressione minima sia determinato dalla diminuzione dell'ampiezza del letto vasale per vasocostrizione.

Riguardo al meccanismo, per il quale le variazioni della temperatura producono le modificazioni della contrattilità delle arterie e dell'ampiezza del letto vasale, si può pensare che la temperatura esplichi la sua azione sui vasi sia direttamente, sia indirettamente per via riflessa, eccitando gli apparati nervosi della cute che presiedono alla sensibilità termica. In quest'ultimo caso si tratterebbe di un riflesso vasale localizzato, perchè esso si manifesta solo nella regione, che ha subito l'azione della temperatura.

IV. - Conclusioni.

1. — Dopo l'immersione di un arto nell'acqua calda, in questo si producono costantemente un aumento della pressione massima ed una diminuzione della pressione minima, così che la pressione pulsatoria aumenta. Nell'altro arto lasciato in condizioni normali non si verificano che variazioni trascurabili della pressione arteriosa.

2. Dopo l'immersione di un arto nell'acqua fredda, in questo si producono costantemente una diminuzione della pressione massima ed un aumento della pressione minima, così che la pressione pulsatoria diminuisce. Nell'altro arto lasciato in condizioni normali non si producono praticamente variazioni della pressione arteriosa.

3. — L'aumento della pressione massima, dopo l'immersione nell'acqua calda, e la diminuzione, dopo l'immersione nell'acqua fredda, devono essere attribuiti rispettivamente ad un aumento e ad una diminuzione delle contrazioni ritmiche della tunica muscolare delle arterie dell'arto riscaldato o raffreddato. La diminuzione della pressione minima, dopo l'immersione nell'acqua calda e l'aumento, dopo l'immersione nell'acqua fredda, sono dovuti rispettivamente ad un aumento e ad una diminuzione dell'ampiezza del letto vasale nell'arto sottoposto alle variazioni di temperatura.

V. - Bibliografia.

(1) Margaria, R. — Sulle variazioni regionali della pressione sanguigna in rapporto al lavoro muscolare. *Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim.* 1925, **1**, 107.

(2) — — Su alcune modificazioni regionali della pressione del sangue che intervengono in seguito al lavoro muscolare. Questo *Archivio*, 1927, 10, 309.

(3) Ceruti, G. — Sulle variazioni della pressione sanguigna regionale in rapporto alla stasi e all'anemia. *Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim.*, 1926, **1**, 531.

(4) Mennyey, G. — Sulle variazioni regionali della pressione sanguigna in rapporto al bagno di luce. Questo *Archivio*, 1928, **11**, 334.

TABELLA I

Esperimenti eseguiti a temperatura maggiore di quella del corpo.

Numero dell'esperimento	Data 1927	Soggetto	Arto riscaldato	Temperatura del bagno in gradi C.	Durata dell'immersione in minuti	Prima del riscaldamento						Dopo il riscaldamento					
						Arto destro			Arto sinistro			Arto destro			Arto sinistro		
						Press. mass.	Press. min	Press. puls.	Press. mass.	Press. min	Press puls	Press. mass.	Press. min.	Press. puls	Press. mass.	Press min	Press. puls.
I	27 IV	C. L.	D	40	20	160	80	80	155	80	75	165	65	100	155	75	80
II	27 IV	B. P.	D	40	20	145	75	70	140	70	70	145	65	80	140	70	70
III	30 IV	P. G.	D	40	20	140	70	70	135	65	70	145	60	85	135	65	70
IV	30 IV	C. A.	D	40	30	150	85	65	145	80	65	155	70	85	145	80	65
XI	16 V	B. P.	D	40	60	145	75	70	140	70	70	150	65	85	140	70	70
XII	16 V	T. F.	D	42	20	145	75	70	140	70	70	150	70	80	140	70	70
XIV	20 V	S. C.	D	44	25	145	75	70	145	75	70	160	65	95	145	75	70
XVII	24 V	T. G.	D	45	25	170	90	80	170	90	80	175	85	90	170	90	80
XVIII	24 V	T. F.	D	45	25	150	75	75	145	70	75	165	65	100	145	70	75
VII	6 V	B. P.	D	45	30	145	75	70	140	70	70	170	60	110	145	65	80
XV	20 V	C. A.	D	46	20	150	80	70	145	75	75	170	65	105	145	75	70
XVI	20 V	P. G.	D	45	20	140	70	70	140	70	70	160	55	105	140	70	70
VIII	6 V	T. G	D	46	25	150	80	70	145	75	70	165	65	100	145	70	75
IX	6 V	P. A.	D	46	45	155	80	75	155	80	75	180	60	120	155	80	75
V	3 V	P. A.	D	47	10	155	80	75	160	85	75	165	70	95	160	85	75
VI	3 V	M. M.	D	47	30	140	75	65	135	70	65	165	60	105	135	70	65
XIII	16 V	P, A.	D	50	4	160	85	75	155	80	75	180	70	110	155	80	75
X	14 V	B. P.	D	50	5	145	75	70	145	75	70	165	60	95	145	75	70

TABELLA II

Esperimenti eseguiti a temperatura minore di quella del corpo.

Numero dell'esperimento	Data 1927	Soggetto	Arto raffreddato	Temperatura del bagno in gradi C.	Durata dell'immersione in minuti	Prima del raffreddamento						Dopo il raffreddamento					
						Arto destro			Arto sinistro			Arto destro			Arto sinistro		
						Press. mass.	Press. min	Press. puls.	Press. mass	Press min	Press. puls.	Press. mass.	Press. min.	Press. pu s	Press. mass.	Press. min.	Press. puls.
XIX	27 V	S. C.	D	13	20	145	75	70	140	70	70	145	80	65	140	70	70
XXIV	31 V	Z. A.	D	13	30	150	75	75	150	75	75	140	80	60	150	75	75
XXV	31 V	B. P.	D	13	35	150	75	75	145	70	75	140	80	60	145	70	75
XXVII	2 VI	M. M.	S	12	20	135	70	65	140	75	65	130	75	55	140	75	65
XXVIII	2 VI	S. A.	D	11	20	135	70	65	130	70	60	125	75	50	130	70	60
XXIX	2 VI	T. F	D	11	25	155	80	75	150	75	75	145	90	55	150	75	75
XX	28 V	Z. A.	D	9	20	150	75	75	145	70	75	145	85	60	145	70	75
XXI	28 V	F. C.	D	9	20	155	80	75	150	75	75	150	95	55	150	75	75
XXIII	30 V	B S.	D	9	25	155	85	70	150	80	70	150	90	60	150	80	70
XXXI	7 VI	C M.	D	8	15	145	75	70	140	75	65	130	80	50	140	75	65
XXII	23 V	B. P.	D	8	20	150	75	75	145	70	75	145	90	55	145	70	75
XXVI	31 V	N. O.	D	8	25	150	75	75	145	70	75	145	85	60	145	70	75
XXXIII	23 VI	C. G.	D	7	15	165	90	75	160	85	75	155	100	55	160	85	75
XXXIV	23 VI	B. E.	D	7	15	135	70	65	130	70	60	120	75	45	125	70	55
XXXV	23 VI	T. A.	D	7	20	160	80	80	155	75	80	150	90	60	150	75	75
XXXIX	23 VI	S. A.	D	6	10	160	80	80	165	85	80	155	90	65	165	85	80
XXX	4 VI	T. F.	D	6	15	150	75	75	145	70	75	125	60	65	130	60	70
XXXVI	23 VI	P. D.	D	6	15	165	85	80	160	80	80	150	95	55	160	80	80
XXXVII	24 VI	S. F.	D	6	20	160	80	80	155	75	80	150	85	65	150	75	75
XXXVIII	24 VI	A. C.	D	6	25	165	85	80	160	80	80	150	90	60	160	80	80
XL	28 VI	A C.	D	5	30	160	85	75	155	80	75	140	95	45	155	80	75
XXXII	10 VI	B. P.	D	4	15	150	75	75	145	70	75	140	85	55	145	70	75
XLI	28 VI	S. F.	D	4	20	160	80	80	155	80	75	145	85	60	150	80	70

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. T. Gayda)

DOTT. RODOLFO FERRARI
AIUTO

Ricerche ematologiche sulla rana salata

(Comunicazione fatta nella Seduta del 5 luglio 1929)
con dimostrazione di tavole, microfotografie e preparati

Sui tessuti della rana salata non sono state finora eseguite ricerche istologiche e mi proposi pertanto di compierle io sistematicamente.

Nella presente nota riporto alcune osservazioni sulla costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici. Ho eseguito i miei esperimenti su 24 rane, di cui 12 vennero perfuse con liquido di Ringer isotonico al siero di sangue di rana, 6 vennero dissanguate completamente e altre 6 vennero tenute di controllo.

Gli animali, digiunanti e sottoposti periodicamente ad esami del sangue, vennero uccisi dopo intervalli di tempo diversi dalla perfusione; da essi furono prelevati pezzi dei vari organi e tessuti per l'esame istologico.

Dalle determinazioni del numero degli eritrociti e dall'esame morfologico del sangue ho potuto constatare che i fenomeni di rigenerazione del sangue nella rana salata avvengono con estrema lentezza.

Mentre infatti nella rana normale il numero degli eritrociti è di circa 400.000 in media per mm.^{3}, nella rana

predominano in modo assoluto sono gli elementi appartenenti alla serie eritroblastica e al sistema reticolo-endoteliale, così che molte zone midollari sono costituite quasi esclusivamente da cellule della serie eritrocitaria e da elementi reticolo-endoteliali.

Anche nei preparati di milza si può dimostrare la esistenza di una notevolissima proliferazione del sistema eritrocitario. Prevalgono anche qui gli elementi immaturi della serie rossa (proeritroblasti, eritroblasti basofili).

Dall' esame complessivo dei preparati di sangue e di organi ematopoietici, eseguiti a varia distanza di tempo dalla perfusione, si possono seguire nella rana salata tutti gli stadi di evoluzione dei fenomeni di rigenerazione del sangue, fintantochè, a lunga distanza di tempo, si può constatare lo stabilirsi di uno stato eritremico del sangue e degli organi ematopoietici.

Tale interpretazione è giustificato dal fatto:

1) che alla base del processo stanno fenomeni di iperplasia delle cellule eritrocitarie, e di inibizione della loro evoluzione, fatti fondamentali e perfettamente analoghi a quanto si osserva per le forme della serie bianca nel processo leucemico;

2) che per la serie eritroblastica (come per quella leucoblastica) non le variazioni numeriche hanno importanza per definire il processo, ma sopratutto quelle qualitative (presenza in circolo di forme profondamente situate nella scala genetica eritrocitaria, proeritroblasti, eritroblasti basofili);

3) che negli stadi di evoluzione dei fenomeni rigenerativi del sangue — ad un dato momento — nei tessuti ematopoietici non si ha piú il susseguirsi di un normale processo citoevolutivo, ma si stabiliscono:

a) variazioni quantitative, per spiccatissima eritroblastosi relativa;

b) variazioni degenerative, per anisocitosi e poichilocitosi;

c) variazioni qualitative, per presenza di cellule abnormi — profondamente immature della serie eritroblastica — e di cellule reticolo-endoteliali.

Circa la interpretazione dei fatti osservati qualunque ipotesi si deve ritenere per ora prematura. Se i processi di rigenerazione degli eritrociti siano intimamente legati coi processi di formazione della emoglobina e se il passaggio in circolo di forme profondamente immature, fino allo stabilirsi di un processo eritremico, sia dovuto all'incapacità da parte dell'organismo di una sintesi della emoglobina, sarà oggetto di future ricerche.

CONCLUSIONI

1.° – È possibile ottenere sperimentalmente, nella rana salata, uno stato di vera eritremia, nel senso ematologico della parola, caratterizzato dalla presenza in circolo di numerosissime forme profondamente immature della serie eritrocitaria (proeritroblasti, eritroblasti basofili con fenomeno paradosso, eritroblasti policromatici) e da un processo di attivissima proliferazione del sistema eritropoietico nel midollo delle ossa e nella milza.

2.° – Dopo un certo periodo di tempo dalla perfusione (tre o quattro mesi) si stabilisce un arresto del processo evolutivo delle cellule eritroblastiche, le quali si dimostrano incapaci di raggiungere uno stato di completa maturazione, a differenza di quanto avviene nella rana

dissanguata, nella quale dopo lo stesso periodo di tempo il sangue ritorna in condizioni normali sia qualitativamente che quantitativamente, senza del resto aver mai raggiunto la intensità di alterazione del sangue della rana salata.

Nella interpretazione degli strisci di sangue periferico e degli organi (strisci e sezioni) ho ricorso, durante le mie ricerche, all'autorevole giudizio del Prof. Giovanni Di Guglielmo.

AUTORIASSUNTO

Nel sangue e nei tessuti ematopoietici della rana salata si possono seguire tutti gli stadi morfologici dei normali processi citoevolutivi della serie eritrocitaria.

A lunga distanza di tempo dalla perfusione l'A. ha potuto constatare lo stabilirsi di una vera eritremia sperimentale, caratterizzata da una iperplasia attivissima delle cellule eritroblastiche nei tessuti ematopoietici e da un arresto del loro processo evolutivo, con presenza in circolo di numerosissime forme profondamente immature della serie eritrocitaria.

(Consegnato alla Redazione il 6 luglio 1929).

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. T. Gayda)

DOTT. RODOLFO FERRARI
AIUTO

Sulla formazione di sostanza acidofila interpretabile come emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana ::

Comunicazione fatta nella seduta del 19 luglio 1929
con dimostrazione di tavole, microfotografie e preparati

Nella presente nota riferisco alcune osservazioni dedotte da ricerche morfologiche e microchimiche sulla sede di formazione della emoglobina nella serie eritroblastica della rana.

Esse si ricollegano nel loro significato col reperto morfologico che Villa ha descritto recentemente nella serie dei megaloblasti dell'uomo e in base al quale egli ha prospettato il problema della sede della sintesi dell'emoblobina in modo diverso da quanto finora è stato ritenuto dagli autori (origine paraplasmatica di Pappenheim e da granuli e filamenti plasmatici di Schridde, Ciaccio, Meves; origine protoplasmatica perinucleare di Schilling, Saxer, Giglio-Tos, Albrecht).

In preparati di sangue splenico d'anemia perniciosa, eseguiti con materiale venuto a contatto con una soluzione ipotonica nella siringa aspiratrice, Villa a potuto riconoscere nel nucleo di alcuni megaloblasti, a trama

cromatinica nucleare diradata, la presenza di una sostanza a colorazione rosea diffusa, strettamente circoscritta al campo nucleare e contrastante con la basofilia intensa del protoplasma.

Secondo le diverse fasi di maturazione nucleare dei megaloblasti l' A. ha osservato una modificazione del comportamento della sostanza endonucleare acidofila, che negli stadi più avanzati invade centrifugamente il protoplasma respingendo alla periferia, più che infiltrando, la parte basofila del protoplasma.

Il pensiero dell' A. nella interpretazione dei reperti descritti è che si abbia identità tintoriale tra sostanza acidofila endonucleare e plasmatica, tra sostanza acidofila ed emoglobina e che di conseguenza la sintesi della emoglobina nell' organismo (pur con la riserva prudente che si debba ancora ricercare e stabilire ulteriormente anche con altri mezzi la identità assoluta oltre che tintoriale delle dette sostanze) sia dovuta ad un' attività nucleare.

Nelle mie ricerche sul sangue della rana salata, ricchissimo di forme immature della serie eritrocitaria, ho cercato di poter stabilire:

1° La esistenza o meno, anche per la serie eritroblastica della rana, di sostanza acidofila endonucleare e la sua identità tintoriale e assoluta tra sostanza acidofila endonucleare e plasmatica.

2° Se esista identità tra sostanza acidofila della serie rossa ed emoglobina.

3° Se la comparsa di sostanza acidofila avvenga o no primitivamente nel nucleo degli eritroblasti di rana.

Osservazioni morfologiche.

Negli strisci di sangue a secco e non colorati, la natura degli elementi della serie rossa è ben riconoscibile dalla loro forma e dalla struttura nucleare.

Gli elementi maturi appalesano una tinta giallo-verdastra uniforme del protoplasma e del nucleo.

Tra le masse cromatiniche del nucleo degli eritroblasti si osserva invece a forte ingrandimento una sostanza diffusa di colorazione rossa e che manca, oltre che nel nucleo degli elementi maturi, anche nel nucleo degli elementi della serie bianca.

Negli strisci di sangue colorati con Maj-Grünwald-Giemsa, la struttura compatta del nucleo degli eritrociti maturi impedisce di vedere se sostanza acidofila esista tra le sue maglie.

Più chiara è la osservazione di una sostanza a tinta rosa di fondo tra le intaccature e screpolature delle masse cromatiniche del nucleo degli eritroblasti.

Osservazioni ancor più dimostrative ho potuto fare su preparati di sangue eseguiti alcuni giorni dopo la perfusione della rana, allorchè, accanto all' imponente edema generale da perfusione si verifica un rigonfiamento degli elementi eritrocitari circolanti nel plasma estremamente diluito ; questi si presentano allora rigonfiati, con nucleo grande, a masse cromatiniche disposte a maglia ampia e diradata, con presenza costante di sostanza acidofila tra le masse cromatiniche dei nuclei eritroblastici.

Un fatto di notevole interesse è che la sostanza acidofila non sempre è limitata al nucleo, ma presenta talvolta una diffusione in forma di alone dal nucleo verso il protoplasma (Fig. 1, 2). Nei preparati di sangue ricchi di forme

immature, si possono contemporaneamente seguire tutti gli stadi di evoluzione della sostanza acidofila e della maturazione morfologica-eritroblastica, tra loro intimamente legate.

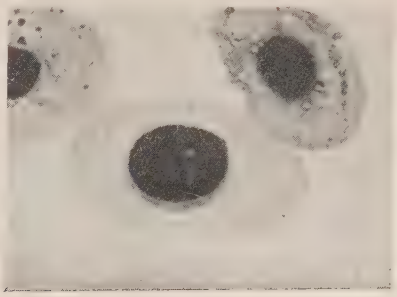


Fig. 1.
Diffusione di emoglobina
dal nucleo degli eritroblasti di rana.

Questi stadi si possono compendiare nelle forme più immature in un particolare contrasto tra la tinta debolmente rosea della sostanza acidofila endo e perinucleare e la intensa basofilia plasmatica per fenomeno paradosso.

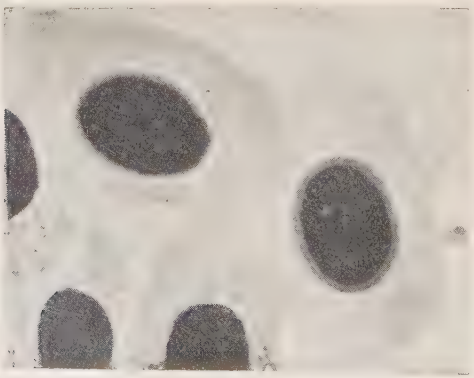


Fig. 2.
Diffusione di emoglobina
del nucleo degli eritroblasti di rana.

Negli eritroblasti policromatofili la sostanza acidofila che si diffonde dal nucleo assume una colorazione rosso scarlatta intensa.

L'interesse degli ulteriori stadi di evoluzione è dato dapprima dalla comparsa della policromatofilia plasmatica e successivamente da una acidofilia del protoplasma caratterizzata da un vero fenomeno di diffusione della sostanza acidofila del nucleo verso il protoplasma a doppio alone concentrico, a gradazione decrescente di acidofilia. Questi ultimi elementi eritroblastici, di grandezza assai maggiore degli elementi normali, giungono allo stadio di maturazione costituiti dal nucleo e dall'alone protoplasmatico più intensamente acidofilo.

Queste fasi precedono immediatamente la maturazione completa dell'eritrocito di rana, e non si appalesano mai negli elementi della serie bianca.

*
* *

Sintetizzando le osservazioni morfologiche risulta:

1° che nella serie eritroblastica della rana esiste una sostanza acidofila endonucleare, la cui identità tintoriale è uguale a quella della sostanza acidofila plasmatica degli elementi maturi;

2° che la comparsa di sostanza acidofila avviene nel nucleo prima che nel protoplasma;

3° che gli stadi di evoluzione morfologica degli elementi della serie rossa sono intimamente legati cogli stadi di evoluzione della formazione endonucleare di sostanza acidofila e della sua diffusione al protoplasma e mancano completamente negli elementi della serie bianca;

4° che nei fenomeni della diffusione al protoplasma si può stabilire:

a) che la policromatofilia, analogamente alla acidofilia plasmatica, ha pure origine nucleare;

b) che la successiva evoluzione eritroblastica avviene con fenomeni morfologici ben distinti del nucleo e dell'alone più intensamente acidofilo e il cui significato è per ora oscuro.

*
* *

Per la interpretazione dei fenomeni morfologici descritti il fatto essenziale è di poter stabilire anzitutto la natura della sostanza acidofila endonucleare e plasmatica

Ehrlich per il primo ha espresso la dottrina che l'affinità cromatica acidofila degli eritrociti sia da riferire ad emoglobina.

Nella ipocitocromia, uniforme o no, dei globuli rossi, la determinazione della quantità di emoglobina risulta diminuita.

In armonia colle osservazioni di Naegeli e Pappenheim sulla ipocromia degli eritrociti anche Ferrata nella clorosi ritiene esatto che il significato clorotico dei globuli rossi sia di scarsa emoglobina.

Circa la ipercromia Ehrlich, Naegeli e Ferrata hanno trovato questo reperto quasi sempre e quasi esclusivamente in quelle anemie dove la quantità di emoglobina negli eritrociti è superiore alla norma.

E. Meyer portò un contributo alla questione dimostrando che anche nel sangue embrionale, ricco di megalociti, i quali istologicamente si appalesano ipercromi, si ha al dosaggio emoglobinico un indice globulare superiore alla norma.

Ferrata con ripetuti dosaggi sul sangue embrionale ha confermato i risultati di E. Meyer, in armonia quindi

colla classica dottrina di Ehrlich sul significato morfologico della acidofilia plasmatica eritrocitaria.

Si potrebbe dunque logicamente ritenere ben fondata l'ipotesi che sostanza acidofila plasmatica e nucleare degli eritroblasti sia interpretabile come emoglobina, anche se Moravitz e Pappenheim non credano che la ipercromia indichi la presenza di un eccesso di emoglobina. Tuttavia Ferrata ritiene che nell'interessante dibattito non ancora risolto solo nuove esaurienti ricerche chimiche debbano portare un contributo decisivo.

Ricerche micro-chimiche.

Per la dimostrazione microchimica e citologica della emoglobina, ho seguito il metodo, opportunamente modificato, fondato sulla reazione perossidasica della emoglobina.

All'uopo mi sono servito di due metodi.

Nel primo ho utilizzato la reazione che l'emoglobina dà coll'α-naftolo e colla dimetil-para-fenilendiamina in presenza di acqua ossigenata.

Ho applicato cioè il metodo Ehrlich per la dimostrazione delle ossidasi nelle cellule del sangue, modificato per la dimostrazione delle perossidasi.

Il secondo metodo è basato sulla reazione che l'emoglobina dà colla benzidina in presenza di acqua ossigenata.

Tale metodo è simile a quello seguito per la ricerca delle perossidasi nei globuli bianchi. Come controllo ho anzitutto eseguito sugli elementi della serie rossa la reazione delle ossidasi mediante gli stessi reattivi ma senza acqua ossigenata, ed ho constatato, ciò che era da aspettarsi, che nel sangue di rana normale e salata la reazione

è negativa. La reazione perossidasica invece tanto nella prova coll' α-naftolo e dimetil-para-fenilendiamina, eseguita con sangue fresco colla tecnica delle colorazioni vitali — quanto nella prova colla benzidina, che si può eseguire sia a fresco che su strisci di sangue a secco — determina una caratteristica colorazione bluastra degli elementi eritrocitari.

È possibile anzi seguire al microscopio tutte le fasi della reazione.

Il fatto di maggior rilievo è che mentre gli elementi della serie bianca rimangono scolorati, gli elementi maturi della serie rossa dànno una reazione della stessa intensità tanto nel plasma quanto nel nucleo, negli elementi immaturi la reazione è più intensa entro al nucleo che nel protoplasma.

I preparati eseguiti colla prova della benzidina si possono conservare a lungo.

Se colorati successivamente col metodo May-Grünwald-Giemsa dimostrano che la sostanza che ha dato la reazione perossidasica e che normalmente è acidofila mantiene inalterata la sua colorazione bluastra.

In base alle osservazioni microchimiche è lecito affermare che la sostanza acidofila è con tutta probabilità emoglobina.

Il fatto che questa negli elementi immaturi si trova in maggior quantità nel nucleo che nel protoplasma e nel nucleo prima che nel protoplasma fa pensare che il nucleo abbia una grande importanza nella sintesi della emoglobina.

AUTORIASSUNTO

L' A. in base a ricerche morfologiche ha constatato che nella serie eritroblastica della rana esiste una sostanza acidofila endonucleare, la cui comparsa avviene nel nucleo prima che nel protoplasma e la cui evoluzione è intimamente legata alla evoluzione morfologica degli eritroblasti (origine nucleare della acidofilia e policromatofilia plasmatica). Con ricerche microchimiche l'A. ha dimostrato che la sostanza acidofila della serie eritrocitaria è emoglobina e che negli elementi immaturi essa è in maggior quantità nel nucleo che nel protoplasma. I risultati delle osservazioni morfologiche e micro-chimiche fanno pensare che nell' organismo il nucleo degli eritroblasti abbia una grande importanza nella sintesi della emoglobina.

(Consegnato alla Redazione il 20-VII-1929).

SULLE VARIAZIONI LOCALI DELLO SFIGMOGRAMMA PER EFFETTO DEL LAVORO MUSCOLARE.

Del Dott. TERESIO ROGATE.

(*Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia*).

I. - INTRODUZIONE.

Recentemente il MARGARIA (1-2) studiò nell'uomo le modificazioni, che subisce la pressione arteriosa di un territorio che ha lavorato, rispetto alla pressione di un territorio mantenuto allo stato di riposo. Il metodo da lui usato a tale scopo consisteva o nel far compiere un determinato lavoro da un braccio solo, facendo servire l'altro, mantenuto in perfetto riposo, da termine di confronto; oppure nel far compiere un lavoro intenso o prevalente dagli arti inferiori (marce, ascensioni, ecc.), mentre servivano da termine di confronto le braccia, mantenute, per quanto era possibile, in riposo. Immediatamente prima ed immediatamente dopo l'esercizio muscolare, si misurava la pressione arteriosa nel territorio che aveva lavorato e in quello che era rimasto in riposo, con l'oscillometro del PACHON. Già in condizioni di riposo il MARGARIA osservò che la pressione massima del braccio che lavora di più, generalmente il destro, supera di 5-15 mm di Hg quella dell'altro braccio. L'aumento della pressione arteriosa diventa poi più evidente immediatamente dopo un lavoro muscolare intenso. Mentre un braccio stava in riposo, il MARGARIA faceva coll'altro sollevare un peso di circa 5 kg dall'altezza della coscia fin sopra il capo, ritmicamente 18 volte al minuto, per 3-4 minuti, a seconda della resistenza individuale. Le misurazioni della pressione fatte subito prima e subito dopo il lavoro su ambedue le braccia dimostrarono nel braccio che ha lavorato un aumento della pressione massima di 23,6 mm di Hg in media ed una diminuzione della pressione minima di 11 mm di Hg in media e perciò un aumento della pressione pulsatoria

di 34,6 mm di Hg. Nel braccio in riposo invece si osservò una leggera diminuzione della pressione. Risultati perfettamente analoghi a quelli ora descritti il MARGARIA ottenne facendo lavorare entrambe le braccia e mantenendo in riposo le gambe, oppure facendo lavorare le gambe e tenendo in riposo le braccia: sempre la pressione fu trovata aumentata solo negli arti che avevano lavorato. L'aumento della pressione si ebbe anche se la contrazione muscolare era isometrica. Il MARGARIA ritiene che le ipertensioni regionali descritte non possano essere spiegate se non ammettendo che alla massa sanguigna proveniente dal cuore venga trasmesso un incremento di energia a livello del territtorio che lavora, energia che non può essere trasmessa se non per mezzo di una appropriata contrazione delle pareti muscolari delle arterie. In altre parole, le arterie, che vanno ad un territorio che lavora, presenterebbero delle contrazioni peristaltiche immediatamente susseguenti alla sistole cardiaca, aventi l'ufficio di favorire la progressione del sangue verso la periferia. La diminuzione della pressione minima in seguito al lavoro è invece facilmente spiegabile coll'aumento del letto vasale, che avviene nel muscolo che lavora; poichè è noto che, mentre nel muscolo in riposo la massima parte dei capillari è chiusa, nel muscolo in attività tutti i capillari diventano pervii al sangue, aumentando così la superficie di deflusso. Quanto al meccanismo d'azione della suddetta contrazione arteriosa questa potrebbe avvenire per una irradiazione ai vasi dell'eccitamento motore che va ai muscoli, oppure potrebbe essere in dipendenza diretta della contrazione muscolare. Per risolvere questo problema, il MARGARIA eseguì la faradizzazione ritmica dei muscoli dell'avambraccio ed osservò che il fenomeno si verifica ugualmente bene, come in seguito alla contrazione volontaria. Egli escluse perciò che la contrazione arteriosa possa essere l'espressione di una irradiazione dell'impulso motore ai vasi; essa sarebbe una diretta conseguenza dello stato di attività dei muscoli.

Variazioni regionali della pressione sanguigna furono anche osservate da CERUTI (3) per effetto dell'anemia e della stasi e da MENNYEY (4) per effetto del bagno di luce.

CERUTI anemizzava un braccio mediante un tubo di gomma avvolto in strette spire dalle prime falangi della mano fino al terzo superiore del braccio, oppure determinava la stasi mediante la compressione esercitata da un manicotto pneumatico applicato al terzo superiore del braccio. Egli constatò nei suoi esperimenti un

aumento della pressione massima e una diminuzione della pressione minima nel braccio anemizzato, se l'anemia si prolungava per oltre 10′, mentre nell'altro braccio, con irrorazione sanguigna normale, la pressione massima subiva nello stesso tempo un lieve aumento di breve durata. Dopo la stasi invece CERUTI osservò una diminuzione subitanea della pressione minima, mentre la pressione massima diminuiva dopo qualche minuto. L'aumento della pressione massima in seguito all'anemia è dovuto, secondo CERUTI, ad una contrazione della tunica muscolare delle arterie. La diminuzione della pressione minima e di quella massima dopo la stasi è da attribuirsi invece ad un aumento del letto vasale.

MENNYEY trovò che, sottoponendo un braccio al bagno di luce, aumentano in esso la pressione massima e quella pulsatoria; anche la pressione minima aumenta, ma in misura insignificante. Nell'altro braccio non sottoposto al bagno di luce si ha invece una diminuzione della pressione massima, di quella minima e di quella pulsatoria, ma in misura trascurabile. L'aumento della pressione massima e di quella pulsatoria nel braccio esposto al bagno di luce è spiegato dal MENNYEY ammettendo una contrazione peristaltica delle arterie.

In tutte le ricerche ora riferite gli aumenti regionali della pressione sanguigna sono stati attribuiti dagli autori a contrazioni peristaltiche delle arterie.

Per controllare l'attendibilità di questa ipotesi, ho eseguito alcune ricerche, sotto la guida del prof. GAYDA, per stabilire se le variazioni regionali della pressione sanguigna, constatate dal MARGARIA per effetto del lavoro muscolare, fossero accompagnate da variazioni pure regionali della forma dello sfigmogramma. Nel caso affermativo, l'ipotesi sopra enunciata avrebbe acquistato un buon fondamento.

II. - TECNICA

I miei esperimenti consistevano nel registrare lo sfigmogramma di entrambi gli avambracci immediatamente prima ed immediatamente dopo il lavoro muscolare di uno solo degli arti superiori. Oltre a registrare lo sfigmogramma, determinavo anche in entrambi gli arti, prima e dopo il lavoro, la pressione arteriosa massima e quella minima.

Eseguii gli esperimenti su 55 soggetti, tutti studenti universitari dai 20 ai 25 anni di età, ad eccezione di due, uno di 39 anni, inserviente presso l'Istituto di Fisiologia, l'altro di 57 anni, di mestiere spaccalegna.

Il lavoro muscolare compiuto dall'arto destro o sinistro, a seconda della preferenza del soggetto, si componeva di quattro movimenti, che si susseguivano ritmicamente a intervalli di 1″ e che consistevano nell'innalzare un manubrio da ginnastica di circa 5 kg prima dall'altezza delle coscie fino alle spalle, poi fin sopra il capo, quindi nell'abbassarlo fino all'altezza delle spalle ed infine nel riportarlo alla posizione di partenza. Il lavoro durava 15′-30′ ed in un caso perfino 45′, a seconda della resistenza individuale.

Per misurare la pressione arteriosa mi servii sempre dell'oscillometro del PACHON.

Per registrare gli sfigmogrammi ricorsi all'idrosfigmografo del MOSSO (5), che permetteva una applicazione sicura ed invariabile dell'apparecchio, per cui levandolo e riapplicandolo erano sempre identiche le condizioni dell'esperimento. L'acqua nell'idrosfigmografo era mantenuta sempre a 38° C. Per potere escludere dai tracciati l'influenza dei movimenti respiratori, li facevo sospendere al soggetto per breve tempo.

III. - RISULTATI SPERIMENTALI.

Nella tabella I. sono raccolti i risultati della misurazione della pressione massima e di quella minima da me ottenuti in alcuni esperimenti prima e dopo il lavoro muscolare. Negli esperimenti XVIII, XIX e XX le contrazioni muscolari furono ottenute mediante faradizzazione dei muscoli bicipite e flessori dell'avambraccio, interrotta 50 volte in 1′ e durata 20′ negli esperimenti XVIII e XX e 8′ nell'esperimento XIX. Un elettrode era posto in corrispondenza del terzo medio dell'avambraccio, sulla superficie flessoria, e l'altro sul ventre muscolare del bicipite.

I dati contenuti in questa tabella concordano perfettamente con quelli ottenuti da MARGARIA. Infatti da essi risulta che già allo stato di riposo la pressione arteriosa massima non è uguale nei due arti, ma è maggiore nell'arto che ordinariamente lavora di più, generalmente il destro. La differenza è di 5 fino a 15 mm di Hg.

TABELLA I.

Numero dell'esperimento	Data 1927	Soggetto	Arto che lavora	Prima del lavoro				Dopo il lavoro			
				Arto destro		Arto sinistro		Arto destro		Arto sinistro	
				Press. mass.	Press. min.	Press. mass.	Press. min.	Press. mass.	Press. min.	Press. mass.	Press. min.
I	3. III	A. M.	D	145	85	140	80	155	80	140	80
II	12. III	B. P.	D	135	80	130	75	145	65	130	75
III	13. IV	S. D.	S	145	75	140	70	145	75	160	60
IV	23. IV	B. P.	D	135	75	130	70	145	65	130	70
V	30. IV	S. D.	D	145	75	140	70	160	60	145	70
VI	6. V	Z. A.	D	135	70	130	65	150	60	130	65
VII	6. V	C. S.	D	150	85	150	80	165	75	150	80
VIII	6. V	T. F.	D	145	75	140	70	155	55	140	65
IX	8. V	G. P.	D	155	70	150	70	165	55	145	70
X	14. V	A. M.	D	145	75	140	70	160	60	145	70
XI	16 V	A. G.	D	165	80	160	75	175	65	160	75
XII	19. V	C. S.	D	155	85	150	85	170	65	150	85
XIII	20. V	G. P.	D	150	70	140	65	175	55	145	65
XIV	23. V	B. A.	D	150	80	135	75	175	65	135	75
XV	24. V	A. M.	D	150	75	145	75	175	65	145	75
XVI	27. V	B. P.	D	135	75	130	75	150	60	130	75
XVII	31. V	S. D.	S	150	75	145	60	145	75	160	60
XVIII	2. VI	G. P.	D	150	70	145	70	160	55	145	70
XIX	3. VI	G. P.	D	150	75	145	75	160	65	145	75
XX	13. VI	F. T.	D	155	75	150	70	165	65	150	70

Dopo il lavoro muscolare di un arto, la pressione massima di questo presenta costantemente un aumento di 5 fino a 25 mm di Hg, mentre la pressione minima diminuisce di 5 fino a 20 mm di Hg. Nell'arto di controllo, che rimane inattivo, non si nota invece alcuna variazione degna di nota.

Nelle figure 1 e 2 sono riprodotti gli sfigmogrammi ottenuti dai due arti negli esperimenti XIII e XVI, prima e dopo il lavoro dell'arto destro. Gli altri esperimenti diedero tracciati simili a quelli riprodotti nelle figure.

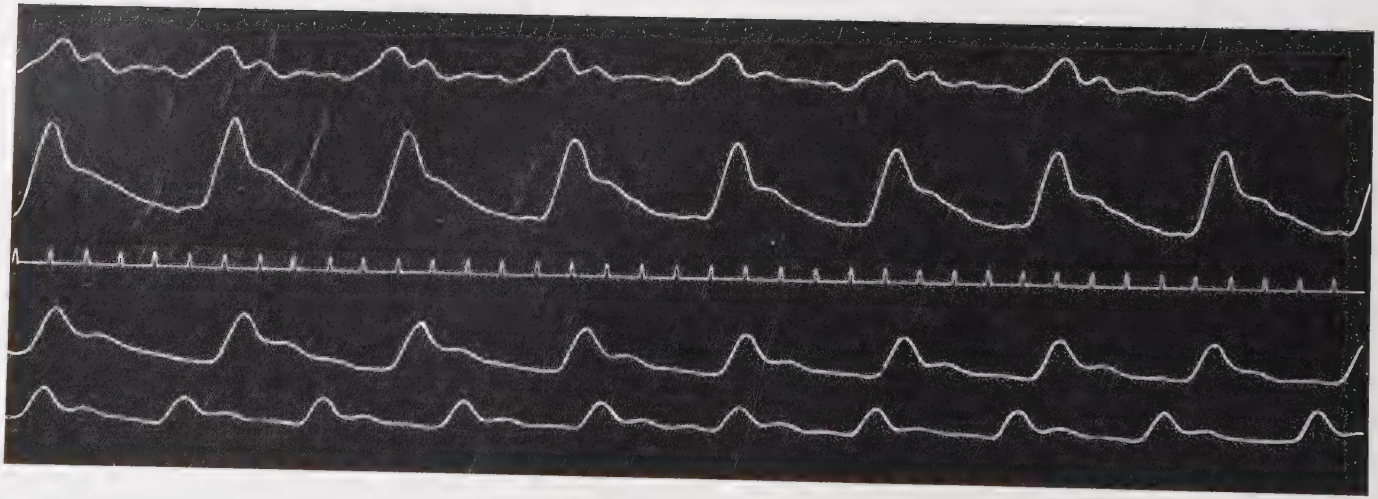


Fig. 1. — *Esperimento XIII.* - 20-V, 1927. — Sfigmogrammi dei due arti superiori prima e dopo il lavoro dell'arto destro. Il primo ed il secondo tracciato si riferiscono all'arto destro rispettivamente prima e dopo il lavoro; il terzo ed il quarto tracciato si riferiscono all'arto sinistro rispettivamente prima e dopo il lavoro dell'arto destro. Tempo = 0', 2.

Fig. 2. — *Esperimento XVI.* - 27-V, 1927. — Sfigmogrammi dei due arti superiori prima e dopo il lavoro dell'arto destro. Il primo ed il secondo tracciato si riferiscono all'arto destro rispettivamente prima e dopo il lavoro; il terzo ed il quarto tracciato si riferiscono all'arto sinistro rispettivamente prima e dopo il lavoro dell'arto destro. Tempo = 0″, 2.

Se si esaminano questi sfigmogrammi, si osserva che già allo stato di riposo esiste una differenza costante fra la forma dello sfigmogramma dell' arto che di solito lavora più, generalmente il destro, e quella dell' altro arto. Nel primo tanto l' elevazione principale, quanto quella dicrota sono più alte.

Confrontando poi gli sfigmogrammi dell' arto che ha lavorato con quelli dello stesso arto a riposo, si rileva che i primi hanno una altezza notevolmente maggiore che i secondi. Inoltre l' elevazione dicrota è in quelli meno evidente che in questi. Lo sfigmogramma dell' arto del lato opposto, tenuto in riposo, non presenta invece alcuna modificazione apprezzabile dopo il lavoro dell' altro arto.

Per stabilire la causa di tale fatto eseguii in entrambi le serie di sfigmogrammi dell' arto che ha lavorato le seguenti misurazioni.

Anzitutto, facendo uguale a 100 la durata totale di ciascun sfigmogramma, calcolai in centesimi di detta durata i tempi che intercedono fra l' inizio dello sfigmogramma ed i culmini dell' elevazione principale e dell' elevazione dicrota. Riporto nella tabella II i dati ottenuti per gli sfigmogrammi dell' arto destro, prima e dopo il lavoro, nell' esperimento XVI.

TABELLA II.

	Prima del lavoro	Dopo il lavoro
Tempo fra l' inizio dello sfigmogramma e il culmine dell' elevazione principale .	22	25
Tempo fra l' inizio dello sfigmogramma e il culmine dell' elevazione dicrota . .	48	47

Questi dati dimostrano che, per effetto del lavoro muscolare, tanto il culmine dell' elevazione principale, quanto quello dell' elevazione dicrota non subiscono praticamente alcuno spostamento rispetto alla durata totale dello sfigmogramma. Si deve perciò concludere che la minore evidenza dell' elevazione dicrota nello sfigmogramma dopo il lavoro non è dovuta a variazione del momento in cui tale elevazione si produce.

Si potrebbe pensare allora che l' elevazione dicrota sia meno manifesta dopo il lavoro perchè, pur aumentando d'altezza, l'aumento sia proporzionalmente minore che quello dell' elevazione principale. Per risolvere questa questione, eseguii sugli sfigmogrammi una seconda serie di misurazioni: determinai cioè gli aumenti percentuali che subiscono, per effetto del lavoro muscolare, l' elevazione principale e quella dicrota. Tali aumenti nell'esperimento XVI sono i seguenti:

Elevazione principale 45

Elevazione dicrota 60.

Essi indicano evidentemente che l' aumento percentuale dell' elevazione dicrota non è affatto minore di quello dell' elevazione principale, ma al contrario ne è un po' maggiore. Perciò il fatto che l' elevazione dicrota nello sfigmogramma ottenuto dopo il lavoro muscolare è meno pronunciata che prima non può essere attribuito che ad una modificazione della forma dello sfigmogramma. Come risulta dall' ispezione dei tracciati, l' avvallamento che esiste nello sfigmogramma fra l' elevazione principale e quella dicrota è, dopo il lavoro, meno profonda che prima, così che l' elevazione dicrota ne rimane un po' mascherata.

Riassumendo, le modificazioni dello sfigmogramma per effetto del lavoro muscolare consistono essenzialmente in un aumento dell' altezza tanto dell' elevazione principale, quanto di quella dicrota e in una diminuzione dell' avvallamento esistente fra le due elevazioni. Poichè queste modificazioni avvengono solo nello sfigmogramma dell' arto che ha lavorato e non in quello dell' arto tenuto a riposo e poichè d' altra parte, secondo le ricerche del MARGARIA, per effetto del lavoro muscolare limitato ad un arto si produrrebbero solo in questo arto delle contrazioni ritmiche delle arterie, si può logicamente concludere che le suddette modificazioni della forma dello sfigmogramma siano in relazione con tali contrazioni delle arterie. Con tutta probabilità i movimenti delle pareti delle arterie determinati dalle contrazioni e dai rilasciamenti della tonaca muscolare si sommano con quelli dovuti al passaggio dell' onda sfigmica, così che il tracciato sfigmografico risulta più ampio, ma acquista una forma un po' diversa da quella normale.

IV. - Conclusioni.

1. - Già allo stato di riposo esiste una differenza costante fra la forma dello sfigmogramma dell'arto superiore, che di solito lavora di più (generalmente il destro), e quella dell'arto del lato opposto. Nel primo tanto l'elevazione principale, quanto l'elevazione dicrota sono più alte.

2. - Dopo il lavoro muscolare di un arto, lo sfigmogramma di questo acquista un'altezza notevolmente maggiore, mentre l'elevazione dicrota diventa meno evidente. Lo sfigmogramma dell'arto del lato opposto, tenuto in riposo, non presenta invece alcuna modificazione apprezzabile.

3. - Poichè le modificazioni della forma dello sfigmogramma si producono solo nell'arto che ha lavorato e poichè solo in questo si producono contemporaneamente un aumento della pressione arteriosa massima e una diminuzione della pressione minima, le modificazioni della forma dello sfigmogramma si possono attribuire, come quelle contemporanee della pressione arteriosa, a contrazioni ritmiche delle arterie.

V. - BIBLIOGRAFIA.

(1) Margaria R. - Sulle variazioni regionali della pressione sanguigna in rapporto al lavoro muscolare. *Boll. della Soc. Ital. di Biol. sperim.*, 1925, **1**, 107.

(2) Margaria R. - Su alcune modificazioni regionali della pressione del sangue che intervengono in seguito al lavoro muscolare. Questo *Archivio*, 1927, **10**, 309.

(3) Ceruti G. - Sulle variazioni della pressione sanguigna regionale in rapporto alla stasi e all'anemia. *Boll. della Soc. Ital. di Biol. sperim.*, 1926, **1**, 531.

(4) Mennyey G. - Sulle variazioni regionali della pressione sanguigna in rapporto al bagno di luce. Questo *Archivio*, 1928, **11**, 334.

(5) Mosso A. - Sulle variazioni locali del polso nell'avambraccio dell'uomo. *Atti della R. Accad. delle Scienze di Torino*, 1877, **13**.

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. T. Gayda)

DOTT. RODOLFO FERRARI

Sulla divisione diretta degli eritrociti circolanti della rana

(Comunicazione fatta nella seduta del 24 gennaio 1930)

Durante i processi di eritropoiesi della rana salata [1] constatai con grande frequenza, assieme al processo di cariocinesi degli eritroblasti, un attivissimo processo di divisione diretta degli eritrociti circolanti. Lo stesso reperto osservato nel sangue a fresco, debolmente colorato con bleu di metilene, fa escludere l'ipotesi di una alterazione da fissazione o da striscio. Il processo di amitosi degli eritrociti, non ancora noto nella rana normale, non sembra privo d'interesse in quanto dimostra che in date condizioni non è fenomeno di senescenza o di degenerazione cellulare (Ziegler, Flemming, v. Rath, Lurini), ma può verificarsi nella rigenerazione del sangue. Tale reperto permette inoltre di stabilire alcune considerazioni sulla genesi degli eritrociti privi di nucleo del sangue

[1] R. Ferrari — Ricerche ematologiche sulla rana salata. - Boll. della Soc. It. di Biol. Sper., 1929, IV, 7, p. 843.

di rana ed alcune distinzioni dal punto di vista biologico tra i processi di mitosi e di amitosi delle cellule del sangue. Si ha cioè: .

1.° *Una forma di divisione amitotica nucleare non seguita o accompagnata da divisione del citoplasma.*

La divisione del nucleo, simmetrica o no, per lo più avviene per clivaggio, cioè per la formazione di una finissima fessura, senza costrizione del nucleo e senza che le due metà si discostino, oppure avviene per strozzamento del nucleo a clessidra fino alla separazione completa od incompleta delle due parti. Il citoplasma rimane indifferente al processo. Nella cellula eritrocitaria, in cui è avvenuta la divisione del nucleo, restando integra l'individualità cellulare, la grandezza in toto della cellula risulta notevolmente aumentata.

2.° *Una forma di divisione amitotica nucleare seguita o accompagnata da divisione del citoplasma.*

Conduce alla formazione di due cellule eritrocitarie figlie, secondo lo schema classico del processo di amitosi o secondo numerose varietà di esso. Alcuni eritrociti differiscono da quelli normali per il nucleo che ha una forma ad otto invece che quella ovale. Contemporaneamente o successivamente allo strozzamento mediano del nucleo si ha quello citoplasmatico. La forma di tutto l'elemento asseconda quella del nucleo nei suoi vari stadi di divisione. Allorchè i due nuclei figli sono uniti da un peduncolo cromatinico sottilissimo, la forma più comune della cellula è quella a bisaccia.

Quando invece i due nuclei figli sono indipendenti e separati tra loro, le due cellule assumono una forma allungata a pera e sono tenute assieme per la loro estremità affilata da un sottile ponte citoplasmatico. La cel-

lula figlia staccata può conservare ancora una forma appuntita ad un estremo.

Le varietà del processo di amitosi degli eritrociti sono numerosissime e portano alla separazione di cellule figlie asimmetriche, di dimensioni disuguali. L'asimmetria può riguardare tanto il nucleo quanto il citoplasma o l'una e l'altra parte assieme. In generale le varietà dovute a divisione nucleare per clivaggio costituiscono il processo meno frequente.

3.° Accanto alle forme ora descritte debbo ricordarne alcune altre in cui le fasi della divisione citoplasmatica non sono accompagnate da divisione nucleare. Il processo si può così ricostruire: il nucleo, di struttura normale, si presenta eccentrico, ad una estremità della cellula. Il citoplasma dapprima conserva la sua forma allungata ed ovale, poi presenta una strozzatura equatoriale appena accennata, in seguito si approfonda progressivamente fino alla separazione in due parti: l'una costituita dal nucleo circondato da scarso protoplasma, l'altra da una porzione ampia di protoplasma, di forma ellittica o tondeggiante, che non si differenzia dagli eritrociti privi di nucleo del sangue di rana.

Nella interpretazione dei diversi fenomeni osservati il fatto più notevole è che il processo di amitosi si riscontra soltanto tra gli elementi maturi o assai prossimi alla maturazione (ovoidali di forma e già provvisti di pigmento emoglobinico nel loro citoplasma), mentre la divisione per cariocinesi si osserva solo negli elementi immaturi della seria eritrocitaria, a forma tondeggiante. Il risultato del primo processo è rappresentato dalla formazione di cellule figlie eritrocitarie di costituzione mor-

fologica simile a quella della cellula madre (proliferazione omoplasica).

Col secondo processo si formano prevalentemente cellule figlie, la cui costituzione morfologica, per processo di differenziazione, acquista caratteri nucleari e plasmatici diversi da quelli della cellula madre (nucleo differenziato verso una forma più matura, citoplasma più ricco di pigmento emoglobinico — proliferazione eteroplasica).

È difficile naturalmente dire se tali caratteri differenziali tra il processo di amitosi e quello di mitosi siano da ricondurre alla formazione o meno di cromosomi o ad altri fattori. Per ora solo alcuni dati restano ben definiti:

1.° Negli eritrociti della rana la facoltà di riproduzione della cellula è perfettamente conservata ed essa avviene per amitosi.

2.° Il processo di amitosi non esercita infuenza sulla differenziazione e maturazione delle cellule eritroblastiche.

3.° Il processo di differenziazione del tessuto eritroblastico è intimamente legato alla proliferazione per cariocinesi.

4.° Il processo di amitosi non si può attribuire a senescenza o a degenerazione cellulare, in quanto che, in date condizioni di rapido accrescimento cellulare, esso interviene nella eritropoiesi del sangue di rana.

In particolare considerazione deve essere preso il fenomeno osservato che dimostra la formazione degli eritrociti privi di nucleo del sangue di rana. Si può escludere, come si è detto sopra che esso sia da attribuire ad alterazioni conseguenti alla fissazione o allo striscio. Tuttavia non si può dire nella sua interpretazione se si tratti di fenomeno vitale di divisione, analogo a quello

osservato da Jolly (1) nella divisione diretta dei leucociti di Axolotl, oppure di semplice fenomeno di frammentazione del citoplasma, relativo a distruzione cellulare. Secondo Jolly (2) gli eritrociti privi di nucleo del sangue di rana avrebbero origine per un meccanismo analogo a quello per cui gli eritroblasti di mammifero perdono il loro nucleo. Senza voler escludere per il sangue di rana questa ipotesi, la quale finora non trova conferma nei fatti osservati, si può affermare che gli elementi privi di nucleo del sangue di rana con tutta probabilità si formano per la separazione di una parte del citoplasma degli eritrociti circolanti.

CONCLUSIONI

1.°) E' possibile determinare sperimentalmente nella rana salata un vivacissimo processo di amitosi degli eritrociti circolanti maturi o assai prossimi a maturazione. Negli eritroblasti immaturi di forma tondeggiante (proeritroblasti, eritroblasti basofili) il processo di proliferazione cellulare avviene per cariocinesi.

2.°) Nel sangue della rana salata il processo di amitosi non rappresenta un segno di senescenza o di degenerazione cellulare; esso, in date condizioni di rapido accrescimento cellulare, interviene nei processi di eritropoiesi del sangue di rana. Nei rapporti tra processo mitotico e quello amitotico della scala genetica eritrocitaria si può stabilire:

---

(1) Jolly, J. — Traité technique d'hématologie, Paris, 1923, vol. I, pag. 266.

(2) Jolly, J. — Traité technique d'hématologie, Paris, 1923, vol. I, pag. 104.

a) negli eritrociti della rana la facoltà di riproduzione della cellula è perfettamente conservata ed avviene per amitosi.

b) il processo di amitosi non esercita influenza sulla differenziazione e maturazione delle cellule eritroblastiche.

c) la differenziazione e la maturazione delle cellule eritroblastiche è intimamente legata al processo di proliferazione per cariocinesi.

3.°) Le fasi con cui si determina la riproduzione amitotica degli eritrociti di rana sono uguali a quelle note per gli eritrociti dei pesci, anche in condizioni normali (Stolz) (1).

Furono tuttavia osservate alcune forme particolari in cui le fasi di una progressiva separazione di un'ampia porzione di citoplasma emoglobinico dal resto della cellula, senza divisione nucleare, fa pensare che la genesi degli eritrociti privi di nucleo del sangue circolante avvenga per tale processo.

---

(1) Stolz, R. — Ematopoiesi normale e sperimentale nei pesci teleostei. - Haematologica, IX, 1923, p. 420.

(Consegnato alla Redazione il 21 gennaio 1930).

AUTORIASSUNTO

L'A. ha constatato durante la rigenerazione del sangue della rana salata un vivacissimo processo di amitosi degli eritrociti circolanti maturi ed un processo di cariocinesi esclusivo delle forme eritrocitarie immature. Tale reperto fa pensare che negli eritrociti già differenziati della rana la facoltà di riproduzione della cellula sia perfettamente conservata ed avvenga per amitosi e che la differenziazione delle cellule eritroblastiche sia invece intimamente legata al processo per cariocinesi.

Furono inoltre osservate le fasi della separazione di ampie porzioni di citoplasma emoglobinico degli eritrociti circolanti, le quali dimostrano la genesi degli eritrociti privi di nucleo del sangue di rana.

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOLS OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXVIII° — Fasc. 3°

AZIONE DEL TAGLIO DEL TENDINE DI ACHILLE SUL FOSFOGENO CONTENUTO NEL GASTROCNEMIO DI RANA.

A. Moschini.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

Precedenti ricerche, da me istituite nell'istituto fisiologico della Univervità di Lovanio (1), mi hanno permesso di stabilire l'influenza esercitata dal taglio dello sciatico sul fosfogeno del gastrocnemio di rana. Praticando la sezione di questo nervo, si osservano delle differenze fra la quantità di fosfocreatina contenuta nel gastrocnemio enervato e quella del muscolo omologo intatto. Quantunque i valori variino notevolmente da un caso all'altro, nei primi venti o trenta giorni successivi al taglio dello sciatico, è il gastrocnemio paralizzato che contiene una più grande quantità di fosfogeno, mentre in un secondo periodo la quantità di fosfocreatina appare più grande nel muscolo normale e cresce coll'aumentare del tempo trascorso dall'atto operatorio al momento della determinazione quantitativa della sostanza. Mi parve potersi ritenere che la diminuzione del fosfogeno nel gastrocnemio enervato sia in rapporto col grado di atrofia subito da questo muscolo e che l'aumento iniziale, piuttosto che rappresentare una elevazione di livello nel muscolo paralizzato, sia l'indice dell'abbassamento di livello prodottosi, per idrolisi della sostanza durante il lavoro muscolare, nel muscolo sano corrispondente.

Lavori recenti tendono a stabilire che la distruzione del fosfogeno durante l'attività muscolare, più che in rapporto col fenomeno di contrazione propriamente detto, sia in relazione coll'eccitamento nervoso che arriva alla fibra. G. Martino (2,3), studiando l'azione del curaro sul fosfogeno di muscoli sottoposti ad un determinato lavoro, si formò il convincimento che la fosfocreatina abbia « il compito di servire al fenomeno di trasmissione dell'eccitamento dal nervo al muscolo e dunque alla attività delle giunzioni neuromusco-

lari ». D. Nachmansohn (4), curarizzando egli pure i muscoli allo scopo di eliminare l'eccitabilità nervosa, ha osservato che, mentre colla eccitazione diretta non si riscontra differenza — in confronto dei muscoli di controllo — nella produzione di lavoro e nella formazione di acido lattico, il fosfogeno si comporta nei due casi in modo diverso. Infatti nei muscoli curarizzati la fosfo-creatina si decomporrebbe in proporzione circa tre volte minore rispetto ai muscoli omologhi normali, tanto che la scissione del fosfogeno non corrisponderebbe mai a più di una molecola di acido lattico formatosi, invece di essere con esso nel rapporto di due e mezzo ad uno. Egli venne alla conclusione che la scissione idrolitica del fosfogeno non è in rapporto diretto colla produzione di lavoro, ma piuttosto colla rapidità del processo di eccitazione, cioè colla cronassia. Secondo O. Meyerhoff e D. Nachmansohn (5) si può rendere ancora più spiccata la diminuizione della decomposizione del fosfogeno consecutiva alla soppressione della eccitabilità indiretta, paralizzando i nervi con del cloruro di tetrametilammonio. In seguito a questo trattamento il contenuto in fosfogeno diminuirebbe soltanto di un terzo o della metà rispetto a ciò che si osserva coll'impiego del curaro. Analogo comportamento in confronto del curaro presenterebbe il ioduro di trimetil-ottilamina, sostanza che, secondo Nachmansohn (6), oltre a limitare in grado maggiore lo sdoppiamento del fosfogeno, farebbe anche maggiormente aumentare la cronassia. Conviene infine ricordare che O. Meyerhoff (7), studiando gli effetti della tetanizzazione diretta sul contenuto in fosfogeno di muscoli enervati in precedenza, avrebbe trovato che in questi casi la decomposizione della fosfocreatina è straordinariamente ridotta.

Allo scopo di portare un contributo personale a questa questione della decomposizione del fosfogeno durante l'attività muscolare, io non mi sono accontentato di mettere in evidenza la differenza fra la quantità di fosfogeno contenuta nel gastrocnemio enervato e quella del muscolo omologo intatto, ma ho voluto istituire due nuove serie di esperimenti: nella prima ho tagliato da un lato il tendine di Achille, in modo da poter confrontare il contenuto in fosfogeno del gastrocnemio tenotomizzato con quello del muscolo omologo dell'arto sano; nella seconda, praticando il taglio del tendine di Achille in una zampa e tagliando il nervo sciatico nell'altra, mi sono proposto di confrontare direttamente, in periodi diversi di tempo, i valori del fosfogeno nel muscolo contraentesi a vuoto con quelli del muscolo omologo completamente paralizzato.

Ho fatto 45 esperimenti comparativi: 22 nei due gastrocnemi di rane sottoposte in antecedenza al taglio unilaterale del tendine di Achille e 23 negli stessi muscoli di rane alle quali era stato preventivamente tagliato il nervo sciatico in una zampa ed il tendine di Achille nell'altra.

I gastrocnemi (salvo due casi di peso eccedente i 450 mgr.) sono stati pesati con la bilancia a torsione: per la determinazione del fosfogeno si è impiegata la modificazione di A. P. Briggs (8) al metodo di Bell-Doisy sul dosaggio dei fosfati. Prima di confrontare colorimetricamente l'estratto di ciascuno dei due muscoli omologhi con delle soluzioni titolate di fosfato bisodico, ho sempre confrontato gli estratti fra di loro.

Gli estratti dei due muscoli sono stati preparati immediatamente uno dopo l'altro, cominciando una volta dal muscolo normale (o da quello tenotomizzato) e la volta seguente dal gastrocnemio tenotomizzato (o da quello enervato): disponendo di diversi tubi per il colorimetro, mi è stato possibile di far progredire quasi contemporaneamente le due determinazioni del fosfogeno negli estratti dei muscoli omologhi.

Sezione unilaterale del tendine di Achille (1). — L'operazione venne praticata da 1 a 51 giorni prima di fare le determinazioni quantitative del fosfogeno. Va rilevato che nei primi giorni che seguono al taglio del tendine, pur sforzandomi di ridurre al minimo il trauma operatorio e di attenermi ad una rigorosa asepsi, non sono riuscito quasi mai ad evitare l'insorgenza di un edema — più o meno spiccato — nel gastrocnemio separato dal suo tendine. Ciò spiega le differenze di peso, talvolta notevoli, tra il muscolo della zampa operata ed il suo omologo della zampa di controllo. Ad ogni modo tale edema non è più rilevabile una settimana dopo la sezione del tendine: su 29 rane tenotomizzate da oltre una settimana (in questo numero faccio entrare anche gli animali, nei quali è stato praticato il taglio del nervo sciatico contemporaneamente al taglio del tendine d'Achille) soltanto una volta ho potuto constatare la presenza dell'edema nel gastrocnemio della zampa operata.

Analogamente a quanto ho potuto mettere in evidenza nei citati esperimenti sulla sezione del nervo sciatico, si nota sempre una differenza quantitativa fra il fosfogeno del gastrocnemio tenotomizzato e quello del muscolo intatto di controllo. Anche in questa serie di esperimenti si constata che da principio è il gastrocnemio della

(1) Vedi tabella I^a.

TABELLA I. **Taglio unilaterale del tendine d'Achille**

	Giorni trascorsi dalla operazione	Peso del muscolo (mgr.)	Fosforo totale (mgr. per 100 gr di muscolo)	Fosforo inorgan. (mgr per 100 gr. di muscolo)	Fosfogeno (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Aument. (+) o diminu. (−) percentuale fosfog. nel m tenotom.	OSSERVAZIONI
Gastr. normale ...	1	522,0	52,6	12,5	40,1		
» tenotom...		522,0	55,0	10,7	44,3	+ 11,04	
Gastr. normale ...	1	392,0	60,6	17,4	43,2		
» tenotom...		449,0	58,4	14.6	43,8	+ 1,38 %	
Gastr. normale ...	2	269,0	31,3	9,8	21,5		
» tenotom...		296,0	46,4	10,5	35,9	+ 66,97 %	
Gastr. normale ...	2	251,0	40,0	12,4	27,6		
» tenotom...		296,0	65,2	12,6	52,6	+ 90,05 %	
Gastr. normale ...	3	274,0	43,3	11,9	31,4		
» tonotom...		271,0	57,6	12,1	45,5	+ 44,90 %	
Gastr. normale ...	4	352,0	28,4	9,7	18,7		
» tenotom...		363,0	41,3	9,0	32,3	+ 72,72 %	
Gastr. normale	5	412.0	60,6	17,4	43,2		Gastr. tenot. profondamente alterato.
» tenotom...		441,0	53,0	19,0	34,0	— 21,30 %	
Gastr. normale ...	6	257,0	26,7	12,7	14,0		
» tenotom. .		239,0	34,0	13,7	20,3	+ 45,00 %	
Gastr. normale ...	7	441,0	42,2	14,2	28,2		
» tenotom...		417,0	51,6	13,4	38,2	+ 35,46 %	
Gastr. normale ...	8	275,0	40,9	12,5	28,4		
» tenotom...		238,0	55,1	13,7	41,4	+ 45,77 %	
Gastr. normale ...	10	458,0	51,8	36,8	15,0		
» tenotom...		381,0	72,2	36,0	36,2	+141,33 %	
Gastr. normale ...	12	250,0	35,0	13,7	21,3		
» tenotom...		219,0	38,5	15,0	23,5	+ 10,32 %	
Gastr. normale ...	16	329,0	45,6	12,3	33,3		
» tenotom...		271,0	53,0	13,2	39,8	+ 19,51 %	
Gastr. normale ...	20	329,0	28,5	10,0	18,5		
» tenotom...		342,0	42,0	21,9	20,1	+ 8,64 %	
Gastr. normale . .	25	369,0	55,8	20,4	35,4		
» tenotom...		332,0	69,4	22,4	47,0	+ 32,76 %	
Gastr. normale ...	29	234,0	56,1	14,6	41,5		
» tenotom...		197,0	63,4	15,8	47,6	+ 14.69 %	

(*Segue:* TAB. I)

	Giorni trascorsi dalla operazione	Peso del muscolo (mgr.)	Fosforo totale (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Fosforo inorgan. (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Fosfogeno (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Aument. (+) o dimin. (—) percentuale fosfog. nel m. tenotom.	OSSERVAZIONI
Gastr. normale . . .	33	487,0	56,4	19,2	37,2		
» tenotom. . .		337,0	47,0	16,6	30,4	+ 22,36 %	
Gastr. normale . . .	35	167,5	56,1	18,7	37,4		
» tenotom. . .		118,0	53,0	25,2	27,8	— 25,67 %	
Gastr. normale . . .	37	186,0	43,7	16,8	26,9		Rigenerazione del tendine d' Achille
» tenotom. . .		113,0	74,6	34,5	40,1	+ 49,07 %	
Gastr. normale . . .	40	342,0	38,3	23,7	14,6		Rigenerazione del tendine d' Achille
» tenotom. . .		227,0	74,3	44,0	30,3	+107,53 %	
Gastr. normale . . .	45	231,0	36,5	14,2	22,3		
» tenotom. . .		211,0	31,1	14,8	16,3	— 26,91 %	
Gastr. normale . . .	51	323,0	49,3	12,6	36,7		
» tenotom. . .		239,0	37,6	13,7	23,9	— 34,88 %	

zampa operata che contiene una percentuale più elevata di fosfogeno, che la differenza è già apprezzabile un giorno dopo l'operazione e che essa si accentua rapidamente fino a raggiungere dei valori comparabili a quelli che si ottengono, nello stesso periodo di tempo, dopo il taglio del nervo sciatico. La concordanza va ancora oltre poichè, dopo questo primo periodo, se ne presenta un altro nel quale si osserva il fenomeno opposto, vale a dire la quantità di fosfogeno diventa più grande nel muscolo normale. Pare però che questo secondo periodo (iniziantesi 30-35 giorni dopo l'operazione) compaia un po' più tardi nei muscoli tenotomizzati in confronto dei muscoli enervati (20-30 giorni). Ciò si può mettere in rapporto col fatto che l'atrofia del gastrocnemio si produca più lentamente dopo il taglio del tendine d'Achille che non dopo la sezione del nervo sciatico.

Sezione unilaterale del nervo sciatico ed omolaterale del tendine di Achille (1). — Allo scopo di poter meglio apprezzare le differenze fra gli effetti prodotti dalla sezione del nervo sciatico e dal taglio del tendine di Achille sul fosfogeno contenuto nel gastrocne-

(1) Vedi tabella IIª.

TABELLA II.

Taglio unilaterale dello sciatico ed omelaterale del tendine d' Achille

		Giorni trascorsi dalla operazione	Peso del muscolo (mgr.)	Fosforo totale (mgr per 100 gr. di muscolo)	Fosforo inorgan. (mgr per 100 gr. di muscolo)	Fosfogeno (mgr per 100 gr di muscolo)	Aumento (+) o diminuz. (−) percentuale fosfog nel m enervato	OSSERVAZIONI
Gastr	tenotom...	1	340,0	66,2	19,3	46,9		
»	enervato ..		336,0	66,9	19,5	47,4	+ 1,06 %	
Gastr.	tenotom...	1	178,0	77,2	18,4	58,8		
»	enervato ..		177,0	81,2	19,9	61,3	+ 4,25 %	
Gastr.	tenotom...	2	540,0	60,2	12,2	48,0		Il gastrocn. tenotom è molt. edemat.
»	enervato ..		462,0	89,2	14,8	74,4	+ 55,00 %	
Gastr.	tenotom...	2	284,0	59,4	12.6	46,8		
»	enervato ..		279,0	67,2	11,7	55,5	+ 16,45 %	
Gastr.	tenotom...	3	215,0	63,9	14,5	49,4		
»	enervato ..		199,0	78,5	17,2	61,3	+ 20,44 %	
Gastr.	tenotom...	4	366,0	32,3	9,3	23,0		
»	enervato ..		343.0	43,7	11,8	31,9	+ 38,69 %	
Gastr.	tenotom ..	5	400,0	62,4	15,6	46,8		
»	enervato ..		376,0	70,2	16,6	53,6	+ 14,52 %	
Gastr.	tenotom...	6	503,0	44,7	12,4	32,3		
»	enervato ..		457,0	52,0	15,0	37,0	+ 14,55 %	
Gastr.	tenotom...	7	346,0	45,1	11,3	33,8		
»	enervato ..		369,0	63,5	23,7	39,8	+ 17,75 %	
Gastr.	tenotom...	8	220,0	53,9	14,2	39,7		
»	enervato ..		206,0	66,7	15,9	50.8	+ 27,95 %	
Gastr.	tenotom...	10	290,0	37,2	11,3	25,9		
»	enervato ..		282,0	63,1	12,7	50,4	+ 94,59 %	
Gastr.	tenotom...	12	200,0	78,1	32,8	45,3		
»	enervato ..		182,0	68,6	16,3	52,3	+ 15,45 %	
Gastr.	tenotom...	16	254,0	44,3	14,1	30,2		
»	enervato ..		226,0	66,3	13,1	53,2	+ 76,15 %	
Gastr.	tenotom...	20	244,0	51,2	12,2	39,0		
»	enervato .		232,0	56,5	13,4	43,1	+ 10,51 %	
Gastr.	tenotom...	25	238,0	126,0	73,5	52,5		
»	enervato ..		228,0	69,8	14,3	55,5	+ 5,71 %	

(*Segue:* TAB. II).

		Giorni trascorsi dalla operazione	Peso del muscolo (mgr.)	Fosforo totale (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Fosforo inorgan. (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Fosfogeno (mgr. per 100 gr. di muscolo)	Aumento (+) o dimin. (−) percentuale fosfog. nel m enervato	OSSERVAZIONI
Gastr.	tenotom...	29	170,0	77,4	33,1	44,3		
»	enervato..		147,0	59,9	21,2	38,7	— 12,65 %	
Gastr.	tenotom...	33	120,0	73,4	26,0	47,4		
»	enervato..		113,0	60,8	26,3	34,5	— 27,22 %	
Gastr.	tenotom...	35	271,0	53,0	13,2	39,8		
»	enervato..		269,0	55,7	13,9	41,8	+ 5,02 %	
Gastr.	tenotom...	37	106,0	92,8	35,3	57,5		
»	enervato..		112,0	78,6	30,6	48,0	— 16,53 %	
Gastr.	tenotom...	40	294,0	36,1	10,6	25,5		Il gastr. tenot presenta delle chiazze emorrag.
»	enervato..		247,0	58,1	13,2	44,9	+ 76,07 %	
Gastr.	tenotom...	42	312,0	57,1	12,5	44,6		
»	enervato..		325,0	51,9	10,6	41,3	— 7,40 %	
Gastr.	tenotom...	45	323,0	85,0	38,6	46,4		
»	enervato..		265,0	49,5	14,1	35,4	— 23,71 %	
Gastr.	tenotom...	51	131.0	66,8	28,6	38,2		
»	enervato..		114,0	53,4	30,1	23,3	— 39,01 %	

mio, ho praticato le due operazioni nello stesso tempo e sul medesimo animale. Si sono impiegate 23 rane, lasciando trascorrere da 1 a 51 giorni prima di fare la determinazione comparativa della fosfocreatina.

Confrontando i risultati ottenuti nei gastrocnemi enervati con quelli dei muscoli omologhi tenotomizzati, si rileva che in generale il peso dei gastrocnemii separati dal loro tendine è superiore al peso dei muscoli omologhi paralizzati in seguito al taglio del nervo sciatico. Questa differenza si spiega nei primi giorni successivi alla operazione con i disturbi circolatorii, ai quali ho già accennato nella mia prima nota, ed in seguito con il fatto che con tutta probabilità l'atrofia dei muscoli si produce più rapidamente nella zampa corrispondente alla sezione dello sciatico che non nella zampa in cui è stato tagliato il tendine d'Achille.

Riguardo al fosfogeno si possono sempre prendere in considerazione due periodi: l'uno iniziale e l'altro tardivo. Nel primo sono i gastrocnemi paralizzati che contengono una più grande quantità di fosfocreatina; al contrario, nel secondo, sono i muscoli omologhi tenotomizzati che si mostrano più ricchi in fosfogeno. Però la differenza iniziale deve essere un po' ridotta in causa dell'aumento di peso subito dai muscoli tenotomizzati e la differenza tardiva non presenta dei limiti molto netti.

Per ciò che si riferisce alla interpretazione dei reperti, io penso che da principio i muscoli paralizzati contengono più fosfogeno perchè essi rimangono in riposo completo, mentre che i muscoli tenotomizzati — contraendosi a vuoto — scindono una certa quantità di fosfocreatina. La successiva inversione dei valori del fosfogeno nei muscoli tenotomizzati in confronto dei muscoli enervati, a mio avviso, deve attribuirsi al fatto che l'atrofia del gastrocnemio si produce più presto dopo la sezione del nervo che non dopo il taglio del tendine. Ad ogni modo la differenza di percentuale fra le due categorie di muscoli è ben lontana da quella che ci si potrebbe attendere, se veramente — come gli esperimenti di Martino, di Nachmansohn, di Meyerhoff, di Meyerhdff e Nachmansohn tendono a dimostrare — la scissione del fosfogeno durante l'attività muscolare fosse legata al fenomeno di eccitazione nervosa, anzichè a quello di contrazione muscolare.

Conclusioni.

1°) Analogamente a quanto si osserva dopo il taglio del nervo sciatico, si rileva sempre una differenza quantitativa fra il fosfogeno del gastrocnemio tenotomizzato e quello del muscolo intatto di controllo. L'analogia è ancora più stretta in quanto che all'inizio è il gastrocnemio della zampa operata che contiene una più grande quantità di fosfogeno, mentre che nel secondo periodo (dopo 30-35 giorni) la quantità di fosfocreatina diventa più grande nel muscolo normale.

2°) Se si confrontano i risultati ottenuti nei gastrocnemii enervati con quelli di muscoli omologhi tenotomizzati, si osserva che nel periodo iniziale sono i gastrocnemi paralizzati che contengono una più grande quantità di fosfogeno: il contrario avviene nel secondo periodo.

3) Si possono spiegare queste differenze fra i muscoli enervati e gli omologhi tenotomizzati senza essere obbligati ad ammettere

che lo sdoppiamento del fosfogeno dipenda dall'eccitazione nervosa, anzichè dalla contrazione muscolare. Con tutta probabilità da principio i muscoli paralizzati contengono più fosfogeno perchè essi restano in riposo completo, mentre che i muscoli tenotomizzati — contraendosi a vuoto — idrolizzano una certa quantità di fosfocreatina. Per ciò che riguarda il secondo periodo si può pensare che la quantità di fosfogeno diventa più grande nei muscoli tenotomizzati in confronto dei muscoli enervati, perchè l'atrofia del gastrocnemio (come dimostra il peso del muscolo) si produce più lentamente dopo il taglio del tendine d'Achille che non dopo la sezione del nervo sciatico.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Moschini A. « Compt. Rend. Soc. de Biol. », T. 99, p. 1889-1892, 1928.
(2) Martino G. « Archivio di Fisiol. », Vol. 26, p. 362-378 e p. 379-384, 1928.
(3) Id. « Archiv. di Farmac. Sperim. e Scienz. aff. », Vol. 50, p. 31-42, 1929.
(4) Nachmansohn D. « Biochem. Zeitschr. », Bd. 196, S. 78-97, 1928.
(5) Meyerhoff O. u. Nachmansohn D. « Die Naturwissensch. », Bd. 16, 726-728, 1928.
(6) Nachmansohn D. « Compt. Rend. Soc. de Biol. », T. 101, p. 1086-1087, 1929.
(7) Meyerhoff O. « Die Naturwissensch. », Bd. 17, S. 283, 1929.
(8) Briggs A. P. « Journ. of Biolog. Chemistry », Vol. 53, p. 13-16, 1922.

[612.741] Reçu le 5 Mars 1930. 305

INFLUENCE EXERCEE PAR LA SECTION DU SCIATIQUE ET DU TENDON D'ACHILLE SUR LE PHOSPHAGÈNE DU GASTROCNEMIEN DE GRENOUILLE

PAR

A. MOSCHINI

(Instituts de Physiologie de l'Université de Louvain et de l'Université de Pavie, dirigés par le Prof. J. BOUCKAERT et le Prof. T. GAYDA.)

Il est bien connu que chez les Mammifères, après la section d'un nerf moteur, on observe dans les muscles striés qu'il innerve des altérations morphologiques et fonctionnelles caractéristiques : amincissement des fibres, prolifération des noyaux, lenteur croissante de contraction, réactions électriques de « dégénérescence », chronaxies de plus en plus élevées.

F. G. WATTS a fait des recherches qui lui ont permis d'affirmer que, contrairement à ce qu'on remarque chez les Mammifères et chez les animaux homéothermes en général, l'excitabilité des muscles de Grenouille ne change pas après la section (remontant à 15-44 jours) de leurs nerfs moteurs.

F. BREMER et P. GÉRARD, après avoir confirmé les résultats de WATTS, ont aussi étudié la question au point de vue histologique : ils sont arrivés à la conclusion que, chez la Grenouille, les muscles innervés par le sciatique ne subissent aucune modification, ni fonctionnelle, ni morphologique, même 4 mois après la section et la dégénérescence du nerf.

Au contraire, D. I. APOSTOLAKI et R. DERIAUD, répétant les mêmes expériences, ont constaté, à partir du 20e-30e jour qui suit la section du nerf, une sensible augmentation de la chronaxie dans le gastrocnémien de la patte opérée, accompagnée d'une légère augmentation de la chronaxie du côté sain. Ils ont également observé des différences dans la résistance à la fatigue. Tandis que, dans les premiers 8 jours, cette résistance est beaucoup plus considérable dans la patte opérée, ensuite, après une période d'environ 10 jours dans laquelle il n'y a pas de différence systématique entre la fatigabilité de la patte normale et celle de la patte malade, les résultats sont inverses. « A partir du 18e jour, le muscle du côté opéré se fatigue toujours plus rapidement que celui du côté sain, ce qui se comprend facilement puisque c'est durant cette période que le muscle privé de son nerf entre en dégénérescence ».

Dans une autre série d'expériences, D. I. APOSTOLAKI et R. DERIAUD ont étudié les effets de la section du tendon d'Achille, en arrivant à des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus après section du nerf et leurs donnant la même explication.

G. BOURGUIGNON, tout en n'ayant pas fait des recherches personnelles sur le sujet, croit que l'augmentation de la chronaxie dans le muscle énervé,

ainsi que la répercussion sur le côté sain, sont des phénomènes généraux communs à toute la série des Vertébrès ; les grandes variations de la chronaxie, la lenteur de la contraction et les modifications histologiques seraient, au contraire, propres aux homéothermes et variables avec la classe considérée.

J. Fontes, dans le gastrocnémien opéré de section unilatérale du sciatique, a constaté une réponse différente à la vératrine, une diminution de l'excitabilité et un tétanos plus imparfait dans le muscle énervé. Au point de vue morphologique, tout en ayant observé un amaigrissement et une moindre consistance du gastrocnémien paralysé, il n'a pas réussi, même 137 jours après la section du nerf, à découvrir de différences histologiques entre les deux muscles homologues.

* * *

Il m'a semblé utile de chercher (1) si, chez la Grenouille ayant subi la section unilatérale du sciatique, il y a des différences entre la quantité du phosphagène contenue dans le gastrocnémien énervé et celle du muscle homologue intact. On sait que le nom de phosphagène a été donné par Ph. et Gr. Eggleton à une substance renfermée en quantité considérable dans le muscle volontaire au repos ; elle constitue un éther phosphorique de la créatine (c'est pour cela que Fiske et Subbarow l'appellent phosphocréatine) et est caractérisée par la facilité avec laquelle l'acide phosphorique est libéré par hydrolyse en solution acide diluée. Le phosphagène se décompose pendant l'activité musculaire et se reforme pendant la période de restauration. Il a été déterminé par L. Irving et Ph. H. Wells en différentes espèces de muscles, par G. Martino (qui a aussi comparé le contenu en phosphagène des muscles à contraction rapide avec celui des muscles à contraction lente) dans le cœur, par G. Zanghi dans les muscles à fibres lisses. G. Martino a encore fait des recherches sur le suc musculaire et sur les muscles curarisées, tandis que G. Falco a étudié le phosphagène dans les muscles en rigidité cadavérique et W. Dulière dans la rigidité musculaire des animaux morts en hypoglycémie par insuline. Enfin G. Solarino a constaté une diminution du phosphagène dans les muscles volontaires des animaux en avitaminose et G. Zanghi, dans les rats et le cobaye, des variations dépendant de la strychnisation et de la résection des nerfs.

Des recherches récentes tendent à établir que la destruction du phosphagène pendant l'activité musculaire est liée au phénomène d'excitation plutôt qu'à celui de contraction. G. Martino, après avoir étudié l'action du curare sur le phosphagène de muscles soumis à un travail déterminé, énonce l'opinion que les variations du phosphagène pendant le raccourcissement du muscle est en rapport avec l'activité de la jonction neuro-musculaire. D. Nachmansohn, en curarisant les muscles afin

(1) Voir la note préliminaire dans les *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, XCIX, p. 1889.

d'éliminer l'excitabilité nerveuse, a observé que, tout en obtenant la même production de travail et la même formation d'acide lactique que dans les muscles de contrôle, le phosphagène se comporte dans les deux cas de manière différente. De fait, dans les muscles curarisés, cette substance se décompose en proportion trois fois moindre que dans les muscles normaux, de telle sorte que la scission du phosphagène ne correspond jamais à plus d'une molécule d'acide lactique formé (au lieu d'être dans le rapport de 2.5 à 1 comme dans les muscles frais, non empoisonnés par le curare). Il en conclut que la transformation du phosphagène n'est pas en rapport direct avec la production de travail, mais avec la rapidité du processus d'excitation, c'est-à-dire avec la chronaxie.

Selon O. MEYERHOFF et D. NACHMANSOHN, on peut rendre encore plus visible la diminution de la décomposition du phosphagène consécutive à la suppression de l'excitabilité indirecte, en paralysant les nerfs avec du chlorure de tétraméthylammonium. A la suite de ce traitement, le contenu en phosphagène diminue seulement d'un tiers ou de la moitié en comparaison de ce qui se produit dans l'empoisonnement par le curare. Un corps qui se comporte de la même façon est l'iodure de triméthyl-octylamine, substance qui non seulement limite davantage le dédoublement du phosphagène, mais qui fait aussi augmenter davantage la chronaxie (NACHMANSOHN).

Il faut rappeler enfin que O. MEYERHOFF — en étudiant les effets de la tétanisation directe sur le contenu en phosphagène des muscles paralysés à la suite de la section préliminaire du nerf moteur — a trouvé que la décomposition de la phosphocréatine est dans ces cas extraordinairement réduite.

Dans le but de porter une contribution personnelle à cette question de la décomposition du phosphagène pendant l'activité musculaire, je ne me suis pas limité à mettre en évidence les différences entre la quantité du phosphagène contenue dans le gastrocnémien énervé et celle du muscle homologue intact, mais j'ai fait deux autres séries d'expériences : dans la première j'ai coupé d'un côté le tendon d'Achille de manière à pouvoir comparer le contenu en phosphagène du gastrocnémien ténotomisé avec celui du muscle homologue de la patte saine ; dans la deuxième, en faisant la section du tendon d'Achille dans une patte et la section du nerf sciatique dans l'autre, je me suis proposé de comparer directement, à des périodes différentes de temps, les valeurs du phosphagène dans le muscle se contractant à vide avec ceux du muscle homologue complètement paralysé.

* * *

J'ai fait au total 92 expériences comparatives : 33 dans les deux gastrocnémiens de Grenouilles ayant subi la section unilatérale du sciatique ; 11 dans les mêmes muscles de Grenouilles soumises à la section unilatérale du tendon d'Achille, 14 dans les gastrocnémiens d'animaux auxquels on avait coupé auparavant le nerf sciatique dans une patte et le tendon d'Achille dans l'autre ; enfin dans deux Grenouilles on avait fait la ligature unilatérale de la veine fémorale pour contrôler l'influence des troubles circulatoires sur le contenu en phosphagène des muscles.

Les gastrocnémiens (à l'exception de quelques muscles dépassant le poids de 450 mgr.) ont été pesés avec la balance à torsion ; pour la détermination du phosphagène on a employé la modification de A. P. Briggs à la méthode de Bell-Doisy sur le dosage des phosphates. Avant de comparer colorimétriquement l'extrait de chacun des deux muscles homologues avec des solutions titrées de phosphate bisodique, j'ai toujours comparé les extraits entre eux. Les extraits des deux muscles ont été préparés immédiatement l'un après l'autre en commençant une fois par le muscle normal (ou par le muscle ténotomisé) et la fois suivante par le gastrocnémien paralysé ; en disposant de plusieurs cuvettes pour le colorimètre, on a fait avancer les deux déterminations du phosphagène dans les extraits des muscles homologues presque simultanément.

Section unilatérale du sciatique. — Les Grenouilles ont été opérées de 2 à 35 jours avant de faire les déterminations. Pour éliminer l'influence des mouvements passifs sur le gastrocnémien paralysé, le nerf sciatique a été coupé [1] non seulement dans la par tie supérieure de la cuisse, mais aussi dans la cavité abdominale : c'est-à-dire sur 13 Grenouilles, le sciatique a été sectionné dans la cuisse et sur 10, à la racine. La section du plexus iliaque a été faite également dans le but — comme j'expliquerai plus loin — de permettre l'emploi du muscle crural des deux côtés pour la recherche comparative du glycogène. Je dois dire tout de suite qu'au point de vue opératoire, toutes les expériences ne sont pas bien réussies : spécialement pendant les premiers jours après l'opération et lorsque la section du nerf a été faite à la racine, on a observé quelquefois des altérations

[1] Pour éviter la régénération, ou au moins pour la retarder, on a fait toujours une double section, en emportant le trait intermédiaire du nerf.

TABLEAU I.

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. dimin. du phosphagène dans le muscle de la patte opérée
1. Gastrocném. norm. ...	7 jours	354.0	58.2	11.5	46.7	35.76%
Gastr. côté opéré		353.5	42.3	12.3	30.0	
2. Gastrocném. norm. ...	8 jours	233.5	75.0	14.7	60.3	25.20%
Gastr. côté opéré		250.0	57.5	12.4	45.1	

circulatoires ou inflammatoires dans la patte correspondant à la section du sciatique. Dans ces cas, le gastrocnémien énervé est plus lourd que son homologue de la patte saine et, à côté d'un œdème de degré plus ou moins accentué, présente souvent d' appréciables différences de coloration. Il est évident que dans ces conditions on doit s'attendre à des résultats inexacts et que la faute sera plus grande lorsqu'on se trouvera en présence de fortes altérations morphologiques ou nutritives du muscle.

L. IRVING et G. M. BASTEDO ont trouvé que « restricted circulation likewise causes phosphocreatine decomposition ». Au contraire A. SWARTZ et A. OSCHMANN, en étudiant les effets de l'énervation sur la créatine musculaire, affirment — en opposition avec les résultats de C. A. PEEKELHARING et C. J. C. HOOGENHUYZE — que la section totale unilatérale du plexus sciatique ne détermine pas de diminution de la créatine contenue dans les muscles de la patte opérée. Toutefois ils font remarquer que « le poids de la patte énervée a toujours été (par suite d'un léger œdème) sensiblement plus élevé que celui de la patte normale ».

C'est pourquoi j'ai cru utile de faire des expériences de contrôle, et dans les deux Grenouilles chez lesquelles j'ai provoqué un trouble

de la circulation par la ligature unilatérale de la veine fémorale, voici les résultats que j'ai obtenus (voir tableau I) :

Le phosphagène se rencontre donc en quantité moindre dans la patte soumise à la ligature de la veine fémorale et pour cela j'ai cru convenable d'écarter dans les deux tableaux suivants, quelques expériences qui ne donneraient pas de suffisante garantie d'allure post-opératoire.

Sciatique coupé à la racine (tableau II).

De l'ensemble de ces recherches on peut se convaincre qu'il y a toujours une différence quantitative entre le phosphagène du gastrocnémien énervé et celui du muscle intact, bien que les valeurs varient notablement d'un cas à l'autre. Dans les 10-40 premiers jours qui suivent la section du sciatique, c'est le gastrocnémien paralysé qui contient une plus grande quantité de phosphagène et si on considère que, à la suite de légers troubles nutritifs, souvent le poids de ce muscle paraît supérieur à celui du muscle homologue normal, on doit conclure que dans ces cas la quantité réelle du phosphagène du muscle paralysé est encore plus élevée.

La différence entre le contenu en phosphagène des deux gastrocnémiens, qui est déjà appréciable après 13 heures, s'accentue rapidement de manière a atteindre 50% et parfois encore plus : pourtant cette différence ne semble pas dépendre du temps écoulé depuis la section du nerf. De là je suis conduit à penser que cette augmentation initiale du phosphagène, au lieu de représenter une élévation de niveau dans le muscle énervé, donne la mesure de l'abaissement de niveau qui s'est produit (par hydrolyse de la substance pendant le travail musculaire) dans le muscle sain correspondant. Ces résultats concordent avec ceux de D. I. Apostolaki et R. Deriaud, qui ont observé au début une résistance à la fatigue beaucoup plus considérable du côté de la patte opérée et qui expliquent la fatigabilité plus grande de la patte normale, par le fait que d'une part (patte opérée) on s'adresse à un muscle au repos, tandis que dans la patte normale on se trouve vis-à-vis d'un « muscle présentant déjà un certain degré de fatigue et pour cela disposé à se fatiguer plus vite que celui au repos ».

Tandis que dans une première période c'est le gastrocnémien

Tableau II.

Sciatique coupé à la racine

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm (+) ou dim. (—). du phosphagène dans m. paralysé
1. Gastrocném. norm.	1 jour	317.0	56.4	8.9	47.5	+ 18.1%
Gastr. côté opérat.....		316.5	65.5	9.4	56.1	
2. Gastrocném. norm.	3 jours	340.0	58.7	7.35	51.35	+ 15.98%
Gastr. côté opérat.....		375.0	66.8	6.25	59.55	
3. Gastrocném. norm.	3 jours	421.0	38.6	8.50	30.10	+ 54.98%
Gastr. côté opérat.....		414.0	54.2	7.55	46.65	
4. Gastrocném. norm.	3 jours	385.5	77.8	30.7	47.1	+ 57.53%
Gastr. côté opérat.....		396.0	91.5	17.3	74.2	
5. Gastrocném. norm.	4 jours	269.0	62.7	12.2	50.5	+ 13.86%
Gastr. côté opérat.....		277.0	67.6	10.1	57.5	
6. Gastrocném. norm.	4 jours	407.5	46.0	8.4	37.6	+ 76.0%
Gastr. côté opérat.....		411.0	73.0	6.8	66.2	
7. Gastrocném. norm.	5 jours	265.0	61.5	11.8	49.7	+ 45.0%
Gastr. côté opérat.....		256.5	88.0	15.9	72.1	

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. paralysé
8. Gastrocném. norm.	5 jours	520.0	50.5	14.4	36.1	+ 45.42%
Gastr. côté opérat.....		540.0	62.5	10.3	52.5	
9. Gastrocném. norm.	6 jours	327.5	48.0	10.0	38.0	+ 39.21%
Gastr. côté opér.....		324.0	63.5	10.6	52.9	
10. Gastrocném. norm. ...	8 jours	360.5	62.5	10.8	51.7	+ 13.92%
Gastr. côté opér.		361.0	67.5	8.6	58.9	
11. Gastrocném. norm. ...	13 jours	298.0	56.6	12.0	44.6	+ 21.97%
Gastr. côté opér.		343.5	63.5	9.1	54.4	
12. Gastrocném. norm. ...	15 jours	350.5	64.2	8.9	55.3	+ 9.94%
Gastr. côté opér.		339.0	70.0	9.2	60.8	
13. Gastrocném. norm. ...	18 jours	335.5	42.9	18.3	24.6	+ 24.65%
Gastr. côté opérat.		323.5	52.0	21.3	30.7	
14. Gastrocném. norm. ...	24 jours	226.0	62.2	8.4	33.8	— 20.11%
Gastr. côté opérat.		218.0	38.4	11.4	27.0	

TABLEAU II. (*Suite*)

Sciatique coupé à la cuisse

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. paralysé
1. Gastrocném. norm. ...	2 jours	363.0	51.5	17.2	34.3	+ 14.28%
Gastr. côté opér.		390.0	52.8	15.2	39.2	
2. Gastrocném. norm. ...	2 jours	291.0	67.8	24.8	43.0	+ 30.93%
Gastr. côté opér.		298.5	75.5	19.2	56.3	
3. Gastrocném. norm. ...	3 jours	290.0	49.5	16.9	32.6	0 %
Gastr. côté opér.		268.5	60.7	28.1	32.6	
4. Gastrocném. norm. ...	4 jours	335.5	48.5	13.0	35.5	+ 44.22%
Gastr. côté opér.		325.0	69.4	18.2	51.2	
5. Gastrocném. norm. ...	5 jours	426.5	64.6	13.2	51.4	+ 9.33%
Gastr. côté opér.		399.5	70.3	14.1	56.2	
6. Gastrocném. norm. ...	5 jours	264.5	55.5	29.5	26.0	+ 18.0%
Gastr. côté opér.		254.0	56.5	25.8	30.7	
7. Gastrocném norm. ...	6 jours	263.0	40.3	22.5	17.8	+ 157.3%
Gastr. côté opér.		266.5	70.5	24.7	45.8	
8. Gastrocném. norm. ...	8 jours	407.0	39.2	16.2	23.0	+ 62.52%
Gastr. côté opér.		395.5	49.9	12.5	37.4	
9. Gastrocném. norm. ...	10 jours	299.5	65.5	25.2	40.3	+ 39.7%
Gastr. côté opér.		279.5	70.2	13.2	56.3	

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. paralysé
10. Gastrocném. norm. ...	12 jours	380.5	23.4	9.4	14.0	+ 47.14%
Gastr. côté opér.		363.0	30.8	10.2	20.6	
11. Gastrocném. norm. ...	16 jours	455.0	23.0	5.85	17.15	+ 166.47%
Gastr. côté opér.		396.0	52.0	6.30	45.7	
12. Gastrocném. norm. ...	16 jours	344.0	34.6	8.4	26.2	+ 25.15%
Gastr. côté opér.		305.0	41.0	8.2	32.8	
13. Gastrocném. norm. ...	23 jours	252.0	64.5	15.5	49.0	— 10.81%
Gastr. côté opér.		249.0	55.0	11.3	43.7	
12. Gastrocném. norm. ...	30 jours	204.0	88.0	21.4	67.4	— 14.09%
Gastr. côté opér.		178.0	66.6	8.7	57.9	
15. Gastrocném. norm. ...	35 jours	265.0	51.9	13.0	38.9	+ 23.13%
Gastr. côté opér.		244.5	58.8	10.9	47.9	
16. Gastrocném. norm. ...	36 jours	305.5	76.5	11.7	64.9	+ 0.92%
Gastr. côté opér.		269.5	76.5	11.0	65.5	
17. Gastrocném. norm. ...	43 jours	227.5	78.2	13.5	64.7	27.04%
Gastr. côté opér.		192.0	61.8	14.6	47.2	
18. Gastrocném. norm. ...	44 jours	307.5	87.3	25.2	62.1	— 14.97%
Gastr. côté opér.		263.5	64.0	11.2	52.8	
19. Gastrocném. norm. ...	45 jours	186.0	87.3	16.8	70.5	62.97%
Gastr. côté opér.		156.5	46.0	19.9	26.1	

paralysé qui contient une plus grande quantité de phosphagène, après on commence en général à observer le phénomène opposé, c'est-à-dire la quantité de phosphagène devient plus grande dans le muscle normal. Ceci s'accorde encore avec les résultats obtenus par APOSTOLAKI et DERIAUD au sujet de la résistance du muscle énervé à la fatigue et doit probablement être mis en rapport avec l'atrophie (simple ou de dégénérescence) de ce muscle. En faveur de cette interprétation on peut aussi rappeler la diminution de poids que presque toujours on remarque du côté du gastrocnémien paralysé, tandis qu'au contraire dans les premiers jours suivant la section du sciatique, le gastrocnémien paralysé pèse plus que son homologue de contrôle. J'ajouterai enfin qu'on ne peut pas déceler de différences appréciables entre les résultats obtenus après la section du sciatique dans la cuisse et ceux qu'on obtient après la section du nerf à la racine. De cela on pourrait, à mon avis, conclure qu'après la section du sciatique à la cuisse, les mouvements passifs du gastrocnémien sont très limités.

Section unilatérale du tendon d'Achille. — Les Grenouilles ont été opérées de 2 à 52 jours avant de faire les déterminations quantitatives du phosphagène. Il est à remarquer que dans les premiers jours après la section du tendon d'Achille, même en s'efforçant de réduire au minimum le choc opératoire et en tâchant d'employer une asepsie rigoureuse, on ne parvient presque jamais à éviter un peu d'œdème dans le gastrocnémien ténotomisé. Cela explique les différences de poids, parfois notables, entre le muscle de la patte opérée et son homologue de la patte de contrôle. J'ajouterai toutefois que cet œdème n'est plus décelable une semaine après la section du tendon : sur 19 Grenouilles ténotomisées depuis une semaine (dans ce nombre je fais entrer aussi les animaux dans lesquels on a coupé tendon d'Achille et nerf sciatique), j'ai constaté une seule fois de l'œdème dans le gastrocnémien de la patte opérée.

Comme j'ai fait pour les recherches sur la section du sciatique, avant de discuter les résultats obtenus, j'ai réuni dans un tableau les valeurs fournies par chaque expérience. (Tableau III).

Pareillement aux résultats obtenus dans les expériences sur la section du nerf sciatique, on relève toujours une différence quantitative entre le phosphagène du gastrocnémien ténotomisé et celui

TABLEAU III.

Section unilatérale du tendon d'Achille

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. ténom.
1. Gastrocném. norm. ...	1 jour	522.0	52.6	12.5	40.1	+ 11.04%
Gastr. ténotomisé.....		522.0	55.0	10.7	44.3	
2. Gastrocném. norm. ...	1 jour	392.0	60.6	17.4	43.2	+ 1.38%
Gastr. ténotomisé.....		449.0	58.4	14.6	43.8	
3. Gastro cném. norm. ...	2 jours	269.0	31.3	9.8	21.5	+ 66.97%
Gastr. ténotomisé.....		296.0	46.4	10.5	35.9	
4. Gastrocném. norm. ...	2 jours	251.0	40.0	12.4	27.6	+ 90.05%
Gastr. ténotomisé.....		296.0	65.2	12.6	52.6	
5. Gastrocném. norm. ...	3 jours	274.0	43.3	11.9	31.4	+ 44.90%
Gastr. ténotomisé.....		271.0	57.6	12.1	45.5	
6. Gastrocném. norm. ...	4 jours	352.0	28.4	9.7	18.7	+ 72.72%
Gastr. ténotomisé.....		363.0	41.3	9.0	32.3	
7. Gastrocném. norm. ...	5 jours	412.0	60.6	17.4	43.2	— 21.30%
Gastr. ténotomisé.....		441.0	53.0	19.0	34.0	

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (−) du phosphagène dans m. ténom.
8. Gastrocném. norm. ...	6 jours	257.0	26.7	12.7	14.0	+ 45.0%
Gastr. ténotomisé.....		239.0	34.0	13.7	20.3	
9. Gastrocném. norm. ...	7 jours	441.0	42.2	14.2	28.2	+ 35.46%
Gastr. ténotomisé.....		417.0	51.6	13.4	38.2	
10. Gastrocném. norm. ...	8 jours	275.0	40.9	12.5	28.4	+ 45.77%
Gastr. ténotomisé.....		238.0	55.1	13.7	41.4	
11. Gastrocném. norm. ...	10 jours	458.0	51.8	36.8	15.0	+141.33%
Gastr. ténotomisé.....		381.0	72.2	36.0	36.2	
12. Gastrocném. norm. ...	12 jours	250.0	35.0	13.7	21.3	+ 10.32%
Gastr. ténotomisé.....		219.0	38.5	15.0	23.5	
13. Gastrocném. norm. ...	16 jours	329.0	45.6	12.3	33.3	+ 19.51%
Gastr. ténotomisé.....		271.0	53.0	13.2	39.8	
14. Gastrocném. norm. ...	20 jours	329.0	28.5	10.0	18.5	+ 8.64%
Gastr. ténotomisé.....		342.0	42.0	21.9	20.1	

TABLEAU III. (*Suite*)

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. ténom.
15. Gastrocném. norm. ...	25 jours	369.0	55.8	20.4	35.4	+ 32.76%
Gastr. ténotomisé.....		332.0	69.4	22.4	47.0	
16. Gastrocném. norm. ...	29 jours	234.0	56.1	14.6	41.5	+ 14.69%
Gastr. ténotomisé.....		197.0	63.4	15.8	47.6	
17. Gastrocném. norm. ...	33 jours	487.0	56.4	19.2	37.2	— 22.36%
Gastr. ténotomisé.....		337.0	47.0	16.6	30.4	
18. Gastrocném. norm. ...	35 jours	167.0	56.1	18.7	37.4	— 25.67%
Gastr. ténotomisé.....		118.0	53.0	25.2	27.8	
19. Gastrocném. norm. ...	37 jours	186.0	43.7	16.8	26.9	+ 49.07%
Gastr. ténotomisé.....		113.0	74.6	34.5	40.1	
20. Gastrocném. norm. ...	40 jours	342.0	38.3	23.7	14.6	+107.53%
Gastr. ténotomisé.....		227.0	74.3	44.0	30.3	
21. Gastrocném. norm. ...	45 jours	231.0	36.5	14.2	22.3	— 26.91%
Gastr. ténotomisé.....		211.0	31.1	14.8	16.3	
22. Gastrocném. norm. ...	51 jours	323.0	49.3	12.6	36.7	— 34.88%
Gastr. ténotomisé.....		239.0	37.6	13.7	23.9	

du muscle intact de contrôle. Dans cette deuxième série d'expériences, on constate encore qu'au début c'est le gastrocnémien de la patte opérée qui contient une plus grande quantité de phosphagène, que la différence est déjà appréciable un jour après l'opération et qu'elle s'accentue rapidement jusqu'à rejoindre des valeurs comparables à celles qu'on obtient — dans la même période de temps — après la section du sciatique.

La concordance va encore plus loin parce que, après cette première période de 40-45 jours, s'en présente une autre dans laquelle on observe le phénomène opposé, c'est-à-dire la quantité de phosphagène devient plus grande dans le muscle normal. Toutefois cette deuxième période semble apparaître un peu plus tard dans les muscles ténotomisés que dans les muscles énervés, ce qui montrerait que l'atrophie du gastrocnémien se produit plus lentement après la section du tendon d'Achille qu'après la section du nerf sciatique. J'aurai l'occasion de revenir sur ce sujet dans le 4e série d'expériences, dans lesquelles j'ai pu comparer dans le même animal les effets de la section du tendon et du nerf. Je désire toutefois attirer tout de suite l'attention sur les résultats contradictoires des expériences 29e et 10e. Dans ces deux cas j'ai pu constater, par suite de la prolifération du tendon d'Achille et de ses adhérences étendues à la partie moyenne du tibia, le rétablissement — quoique imparfait — du fonctionnement du gastrocnémien ténotomisé.

Comme je l'ai déjà dit, dans les premiers jours qui suivent la section du tendon d'Achille, on observe très souvent un léger œdème du gastrocnémien : cela explique son augmentation de poids et nous conduit à admettre qu'en réalité dans ce cas la quantité du phosphagène du muscle ténotomisé doit être encore plus élevée. Mais, si à côté de l'œdème, le gastrocnémien de la patte opérée présente des altérations morphologiques, on obtiendra comme résultat une quantité de phosphagène inférieure à celle contenue dans le muscle sain de contrôle. Cette affirmation est confirmée par les valeurs obtenues dans la 7e expérience, la seule dans laquelle l'allure post-opératoire a été anormale.

Je dois enfin ajouter que ces expériences sur la section du tendon d'Achille concordent aussi dans leur ensemble avec les résultats d'Apostolaki et Deriaud relatifs aux effets de la ténotomie sur la chronaxie et la fatigabilité du muscle.

Section unilatérale du nerf sciatique et homolatérale du tendon d'Achille. — Dans le but de mieux apprécier les différences entre les effets produits par la section du nerf sciatique et par celle du tendon d'Achille sur le phosphagène contenu dans le gastrocnémien, on a fait les deux opérations en même temps et sur le même animal. On a employé 14 Grenouilles, laissant écouler de 2 à 52 jours avant de faire la détermination comparative du phosphagène.

Dans le tableau suivant sont réunis les résultats obtenus (tableau IV). Je dois faire remarquer que dans l'expérience 20e, le gastrocnémien ténotomisé présentait de nombreuses taches hémorragiques à la surface.

Dans le tableau suivant sont réunis les résultats obtenus. Je dois faire remarquer que dans l'expérience 20e, le gastrocnémien ténotomisé présentait de nombreuses taches hémorragiques à la surface.

Si on compare les résultats obtenus dans les gastrocnémiens énervés avec ceux des muscles homologues ténotomisés, on remarque qu'en général le poids des gastrocnémiens séparés de leur tendon est supérieur au poids des muscles homologues paralysés à la suite de la section du nerf sciatique. Cette différence s'explique dans les premiers jours suivant l'opération par les troubles circulatoires dont on a déjà parlé et ensuite par le fait que selon toute probabilité l'atrophie des muscles se produit plus rapidement dans la patte correspondant à la section du sciatique que dans la patte où on a sectionné le tendon d'Achille.

Au regard du phosphagène on peut toujours considérer deux périodes : l'une initiale et l'autre tardive. Dans la première sont les gastrocnémiens paralysés qui contiennent une plus grande quantité de phosphagène ; au contraire dans la deuxième (40-45 jours après l'opération), sont les muscles homologues ténotomisés qui se montrent plus riches en cet éther phosphoré. Toutefois la différence initiale doit être un peu réduite à cause de l'augmentation du poids des muscles ténotomisés et la différence tardive ne présente pas de limites très nettes.

Pour ce qui en est de l'interprétation, je pense qu'au début les muscles paralysés contiennent plus de phosphagène parce qu'ils restent en repos complet, tandis que les muscles ténotomisés — se contractant à vide — hydrolysent une certaine quantité de phos-

TABLEAU IV.

Section unilatérale du sciatique et homolatérale du tendon d'Achille

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou dim. (—) du phosphagène dans m. énervé
1. Gastr. ténotomisé.....	1 jour	340.0	66.2	19.3	46.9	+ 1.06%
Gastr. énervé		336.0	66.9	19.5	47.4	
2. Gastr. ténotomisé.....	1 jour	178.0	77.2	18.4	58.8	— 4.25%
Gastr. énervé		177.0	81.2	19.9	61.3	
3. Gastr. ténotomisé..... (oedémat.)	2 jours	540.0	60.2	12.2	48.0	+ 55.0%
Gastr. énervé		462.0	89.2	14.8	74.4	
4. Gastr. ténotomisé.....	2 jours	284.0	59.4	12.6	46.8	+ 16.45%
Gastr. énervé		279.0	67.2	11.7	55.5	
5. Gastr. ténotomisé.....	3 jours	215.0	63.9	14.5	49.4	+ 20.44%
Gastr. énervé		199.0	78.5	17.2	61.3	
6. Gastr. ténotomisé.....	4 jours	366.0	32.3	9.3	23.0	+ 38.69%
Gastr. énervé		343.0	43.7	11.8	31.9	
7. Gastr. ténotomisé.....	5 jours	400.0	62.4	15.6	46.8	+ 14.52%
Gastr. énervé		376.0	70.2	16.6	53.6	
8. Gastr. ténotomisé.....	6 jours	503.0	44.7	12.4	32.3	+ 14.55%
Gastr. énervé		457.0	52.0	15.0	37.0	

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. du phosphagène (+) ou dim. (—) dans m. énervé
9. Gastr. ténotomise.....	7 jours	346.0	45.1	11.3	33.8	+ 17.75%
Gastr. énervé		369.0	63.5	23.7	39.8	
10. Gastr. ténotomisé.....	8 jours	220.0	53.9	14.2	39.7	+ 27.95%
Gastr. énervé		206.0	66.7	15.9	50.8	
11. Gastr. ténotomisé.....	10 jours	290.0	37.2	11.3	25.9	+ 04.59%
Gastr. énervé		282.0	63.1	12.7	50.4	
12. Gastr. ténotomisé.....	12 jours	200.0	78.1	32.8	45.3	+ 15.45%
Gastr. énervé		182.0	68.6	16.3	52.3	
13. Gastr. ténotomisé.....	16 jours	254.0	44.3	14.1	30.2	+ 76.15%
Gastr. énervé		226.0	66.3	13.1	53.2	
14. Gastr. ténotomisé.....	20 jours	244.0	51.2	12.2	39.0	+ 10.51%
Gastr. énervé		232.0	56.5	13.4	43.1	
15. Gastr. ténotomisé.....	25 jours	238.0	126.0	73.5	52.5	+ 5.71%
Gastr. énervé		228.0	69.8	14.3	55.5	
16. Gastr. ténotomisé.....	29 jours	170.0	77.4	33.1	44.3	— 12.65%
Gastr. énervé		147.0	59.9	21.2	38.7	

TABLEAU IV. (*Suite*)

	Temps écoulé après l'opér.	Poids du muscle (mgr.)	Phosphore total (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphore inorgan. (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Phosphagène (mgr. pour 100 gr. de muscle)	Pourcent. augm. (+) ou d'm. (—) du phosphagène dans m. ténom.
17. Gastr. ténotomisé.....	33 jours	120.0	73.4	26.0	47.4	— 27.22%
Gastr. énervé		113.0	60.8	26.3	34.5	
18. Gastr. ténotomisé.....	35 jours	271.0	53.0	13.2	39.8	+ 5.02%
Gastr. énervé		269.0	55.7	13.9	41.8	
19. Gastr. ténotomisé.....	37 jours	106.0	92.8	35.3	57.5	— 16.53%
Gastr. énervé		112.0	78.6	30.6	48.4	
20. Gastr. ténotomisé.....	40 jours	294.0	36.1	10.6	2 .0	+ 76.07%
Gastr. énervé		247.0	58.1	13.2	44.4	
21. Gastr. ténotomisé.....	42 jours	312.0	57.1	12.5	44.6	— 7.40%
Gastr. énervé		325.0	51.9	10.6	41.3	
22. Gastr. ténotom.	45 jours	323.0	85.0	38.6	46.4	— 23.71%
Gastr. énervé		265.0	49.5	14.1	35.4	
23. Gastr. ténotomisé.....	51 jours	131.0	66.8	28.6	38.2	— 39.01%
Gastr. énervé		114.0	53.4	30.1	23.3	

phocréatine. L'inversion successive des valeurs du phosphagène dans les muscles ténotomisés en comparaison des muscles énervés est, à mon avis, attribuable au fait que l'atrophie du gastrocnémien se produit plus vite après la section du nerf qu'après la section du tendon. En tout cas la différence de pourcentage entre les deux catégories de muscles est très loin de celle qu'on pourrait s'attendre à trouver, si vraiment — comme les expériences de MARTINO, de NACHMANSOHN, de MEYERHOFF, de MEYERHOFF et NACHMANSOHN tendent à démontrer — la décomposition du phosphagène pendant l'activité musculaire était liée au phénomène d'excitation nerveuse plutôt qu'à celui de contraction musculaire.

* * *

J'ai déjà eu l'occasion de dire, à propos de la section unilatérale du sciatique, que dans 10 Grenouilles le nerf a été coupé à la racine dans le but, non seulement d'éliminer l'influence des mouvements passifs sur le gastrocnémien paralysé, mais aussi de permettre l'emploi du muscle crural des deux côtés pour la recherche comparative du glycogène. J'espérais — en comparant dans le même animal les différences du pourcentage du phosphagène avec les différences du pourcentage du glycogène — pouvoir étudier les relations éventuelles entre le comportement des deux substances, c'est-à-dire pouvoir établir si dans le phosphagène et le glycogène de la patte opérée et de la patte normale existent des rapports intimes, capables d'éclairer le chimisme musculaire.

Faute d'un procédé meilleur, j'ai employé la méthode de PFLUEGER modifiée en microméthode : après l'hydrolyse du glycogène, la quantité du glucose était déterminée par la microméthode de FOLIN-WU.

Je dirai tout de suite que mon espoir a été déçu. La méthode du dosage du glycogène n'étant pas comparable par la sensibilité et la précision à celle de BRIGGS pour le dosage du phosphagène, il m'a été impossible d'établir s'il existe des rapports étroits entre les modifications quantitatives de ces deux substances. En me bornant à vérifier s'il y a entre le glycogène et le phosphagène une concordance dans la direction des variations, tout ce qu'il m'est permis de dire c'est que dans leur ensemble mes résultats confirment ceux de CLAUDE BERNARD, de Th. CHANDELON et de E. MANCHÉ.

Comme il est bien connu, ces auteurs ont trouvé depuis longtemps que, dans les muscles de lapin paralysés à la suite de la section du nerf sciatique, on observe une augmentation du glycogène comparativement aux muscles homologues normaux de la patte opposée. Mais je n'ose pas encore affirmer avec certitude, quoique la chose soit très probable, que dans la deuxième période, correspondant à l'atrophie du muscle, se présente — comme pour le phosphagène — le phénomène de l'inversion : la diminution du glycogène, consécutive au prolongement de l'inanition, augmente la difficulté de reconnaître la différence entre le contenu en glycogène du muscle énervé et du muscle normal.

* * *

Il me semble utile, avant de résumer sous forme de conclusions les résultats de mes recherches, de réunir dans un tableau comparatif les valeurs obtenues dans les 4 séries d'expériences : section du nerf sciatique, ténotomie du tendon d'Achille, sections homolatérales du nerf et du tendon. (Tableau V).

Conclusions

1° Bien que les valeurs varient notablement d'un cas à l'autre, il y a une différence quantitative entre le phosphagène du gastrocnémien énervé et celui du muscle intact.

2° Tandis que, dans les 20-30 premiers jours qui suivent la section du sciatique, c'est le gastrocnémien paralysé qui contient une plus grande quantité de phosphagène, après cette première période on commence en général à observer le phénomène opposé : dans la deuxième période, la quantité de phosphagène devient plus grande dans le muscle normal et croît avec le temps ; après 40 jours environ, l'augmentation peut dépasser 50 p. 100.

3° La différence entre le contenu en phosphagène des deux gastrocnémiens, déjà appréciable après 24 heures, s'accentue rapidement : au 2-3e jour après la section du nerf, il n'est pas rare de trouver dans le muscle paralysé 60-70% (même davantage) de phosphagène en plus que dans le muscle sain.

4° Alors que, dans la deuxième période, la différence des taux de phosphagène dans les deux muscles homologues semble dépendre

TABLEAU V.

Jours écoulés après l'opération		Section du Nerf			Section du Tendon			Section Nerf et Tendon		
		Muscle énervé mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle ténotom. mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle énervé mgr.	Muscle ténotom. mgr.	Différ. %
1	Poids muscle	316.5	317.0	- 0.15	522.0	522.0	0	336.0	340.0	— 1.19
	Phosphagène	56.1	47.5	+18.10	44.3	40.1	+11.04	47.4	46.9	+ 1.06
1	Poids muscle	—	—	—	449.0	392.0	+14.54	177.0	178.0	— 0.56
	Phosphagène	—	—	—	43.8	43.2	+ 1.38	61.3	58.8	+ 4.25
2	Poids muscle	390.0	363.0	+ 7.43	296.0	269.0	+ 10.03	462.0	540.0	—14.44
	Phosphagène	39.2	34.3	+14.28	35.9	21.5	+ 66.97	74.4	48.0	+ 55.00
2	Poids muscle	298.5	291.0	+ 2.57	296.0	251.0	+ 17.92	279.0	284.0	— 1.76
	Phosphagène	56.3	43.0	+30.93	52.6	27.6	+ 90.05	55.5	46.8	+ 16.45
3	Poids muscle	268.5	290.0	—10.86	271.0	274.0	— 1.09	199.0	215.0	— 7.44
	Phosphagène	60.7	49.5	0	57.6	43.3	—44.90	61.3	49.4	—20.44
3	Poids muscle	375.0	340.0	+10.29	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	66.8	58.7	+15.98	—	—	—	—	—	—
3	Poids muscle	414.0	421.0	— 1.66	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	54.2	38.6	+54.98	—	—	—	—	—	—
3	Poids muscle	396.0	385.5	+ 2.72	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	91.5	77.8	+57.53	—	—	—	—	—	—

Jours écoulés après l'opération		Section du Nerf			Section du Tendon			Section Nerf et Tendon		
		Muscle énervé mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle ténotom. mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle énervé mgr.	Muscle ténotom. mgr.	Différ. %
4	Poids muscle	277.0	269.0	+ 2.97	363.0	352.0	+ 3.12	343.0	366.0	— 6.28
	Phosphagène	57.5	50.5	+13.86	32.3	18.7	+72.72	31.9	23.0	+ 38.69
4	Poids muscle	325.0	335.0	— 3.12	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	51.2	35.	+44.22	—	—	—	—	—	—
4	Poids muscle	411.0	407.5	+ 0.85	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	66.2	37.6	+76.00	—	—	—	—	—	—
5	Poids muscle	399.5	426.5	— 6.33	441.0	412.0	+ 7.03	376.0	400.0	— 6.00
	Phosphagène	56.2	51.4	+ 9.33	34.0	43.2	—21.30 ?	53.6	46.8	+ 14.52
5	Poids muscle	254.0	264.5	— 3.96	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	30.7	26.0	+ 18.00	—	—	—	—	—	—
5	Poids muscle	256.5	265.0	— 3.20	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	72.1	49.7	+45.00	—	—	—	—	—	—
5	Poids muscle	540.0	520.0	+ 3.84	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	52.5	36.1	+45.42	—	—	—	—	—	—
6	Poids muscle	324.0	327.5	— 1.06	238.0	257.0	— 7.00	457.0	503.0	— 9.14
	Phosphagène	52.9	38.0	+39.21	20.3	14.0	+ 45.00	37.0	32.3	+14.55

TABLEAU V. (*Suite*)

Jours écoulés après l'opération		Section du Nerf			Section du Tendon			Section Nerf et Tendon		
		Muscle énervé mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle ténotom. mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle énervé mgr.	Muscle ténotom. mgr.	Différ. %
6	Poids muscle	266.5	263.0	+ 1.33	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	45.8	17.8	+157.30	—	—	—	—	—	—
7	Poids muscle	—	—	—	417.0	441.0	— 5.44	369.0	346.0	+ 6.64
	Phosphagène				38.2	28.2	+ 35.46	39.8	33.8	+ 17.75
8	Poids muscle	361.0	360.5	+ 0.13	238.0	275.0	13.45	206.0	220.0	6.36
	Phosphagène	58.9	51.7	+ 13.92	41.1	28.4	+ 45.77	50.8	39.7	+ 27.95
8	Poids muscle	395.5	407.0	— 2.82	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	37.4	23.0	+62.52	—	—	—	—	—	—
10	Poids muscle	279.5	299.5	6.67	381.0	458.0	16.81	282.0	290.0	2.75
	Phosphagène	56.3	40.3	+ 39.70	36.2	15.0	+ 141.33	50.4	25.9	+ 94.59
12	Poids muscle	363.0	380.0	4.47	219.0	250.0	12.40	182.0	200.0	— 9.00
	Phosphagène	20.6	14.0	+ 47.14	23.5	21.3	+ 10.32	52.3	45.3	+ 15.45
13	Poids muscle	343.0	298.0	+ 15.26						
	Phosphagène	54.4	44.6	21.97						
15	Poids muscle	339.0	350.5	— 3.28	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	60.8	55.3	+ 9.94	—	—	—	—	—	—
16	Poids muscle	305.0	334.0	8.68	271.0	329.0	17.02	226.0	254.0	11.02
	Phosphagène	32.8	26.2	+ 25.15	39.8	33.3	+ 19.51	53.2	30.2	+ 76.15

Jours écoulés après l'opération		Section du Nerf			Section du Tendon			Section Nerf et Tendon		
		Muscle énervé mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Différ. %	Muscle ténotom mgr.	Muscle contrôlé mgr.	Differ. %	Muscle énervé mgr.	Muscle ténotom mgr.	Différ. %
16	Poids muscle	396.0	455.0	12.96						—
	Phosphagène	45.7	17.15	+ 166.47						
18	Poids muscle	323.5	335.5	3.57						
	Phosphagène	30.7	24.6	+ 24.65						
20	Poids muscle	—	—		342.0	329.0	+ 3.95	232.0	244.0	— 4.91
	Phosphagène	—	—		20.1	18.5	+ 8.64	43.1	39.0	+ 10.51
23	Poids muscle	249.0	252.0	1.19						
	Phosphagène	43.7	49.0	10.81						
24	Poids muscle	218.0	226.0	3.53						
	Phosphagène	27.0	33.8	20.11						
25	Poids muscle	—	—		332.0	369.0	—10.02	228.0	238.0	— 4.20
	Phosphagène	—	—		47.0	35.4	+ 32.76	55.5	52.5	+ 5.71
29	Poids muscle	—	—		197.0	234.0	— 15.81	147.0	170.0	— 13.52
	Phosphagène	—	—		47.6	41.5	+ 14.69	38.7	44.3	— 12.65
30	Poids muscle	178.0	204.0	— 12.74						
	Phosphagène	57.9	67.4	—14.09						
33	Poids muscle	—	—	—	337.0	487.0	—30.80	113.0	120.0	— 5.83
	Phosphagène				30.4	37.2	—22.36	34.5	47.4	—27.22

TABLEAU V. (*Suite*)

Jours écoulés après l'opération		Section du Nerf			Section du Tendon			Section Nerf et Tendon		
		Muscle énervé mgr.	Muscle controlé mgr.	Différ. %	Muscle ténotom. mgr.	Muscle controlé mgr.	Différ. %	Muscle énervé mgr.	Muscle ténotom. mgr.	Différ. %
35	Poids muscle	244.0	265.0	7.92	118.0	167.0	29.34	269.0	271.0	— 0.73
	Phosphagène	47.9	38.9	+23.13	27.8	37.4	—25.67	41.8	39.8	+ 5.02
36	Poids muscle	269.5	305.5	—11.78	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	65.5	64.9	+ 0.92	—	—	—	—	—	—
37	Poids muscle	—	—	—	113.0	186.0	—39.24	112.0	106.0	+ 5.66
	Phosphagène	—	—	—	40.1	26.9	+49.07	48.0	57.5	—16.53
40	Poids muscle	—	—	—	227.0	342.0	—33.62	247.0	294.0	—15.98
	Phosphagène				30.3	14.6	+ 107.53	44.9	25.5	+ 76.07
42	Poids muscle	—	—	—	—	—	—	325.0	312.0	+ 4.16
	Phosphagène	—	—	—	—	—	—	41.3	44.6	— 7.40
43	Poids muscle	192.0	227.5	—15.60	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	47.2	64.7	—27.04	—	—	—	—	—	—
44	Poids muscle	263.5	307.5	—14.30	—	—	—	—	—	—
	Phosphagène	52.8	62.1	—14.97	—	—	—	—	—	—
45	Poids muscle	156.5	186.0	15.86	211.0	231.0	8.65	265.0	323.0	17.95
	Phosphagène	26.1	70.5	—62.97	16.3	22.3	—26.91	35.4	46.4	—23.71
51	Poids muscle	—	—	—	239.0	323.0	—26.00	114.0	131.0	—12.97
	Phosphagène	—	—	—	23.9	36.7	—34.88	23.3	38.2	—39.01

du temps écoulé depuis la section du nerf, pendant la première période, au contraire, lorsqu'on dépasse la phase restauratrice initiale, on doit exclure tout rapport de ce genre. De là, on est conduit à penser que cette augmentation initiale du phosphagène, au lieu de représenter une élévation du niveau dans le muscle énervé, donne la mesure de l'abaissement de niveau qui s'est produit (par hydrolyse de la substance pendant le travail musculaire) dans le muscle sain correspondant.

5° La diminution du phosphagène dans le muscle énervé, qui commence 20-30 jours après la section du sciatique, doit probablement être mise en rapport avec l'atrophie (simple ou de dégénérescence de ce muscle. Ceci s'accorde avec les résultats obtenus par APOSTOLAKI et DÉRIAUD au sujet de la résistance du muscle énervé à la fatigue.

6° Pour obtenir, pendant la première période, une augmentation du phosphagène dans le muscle énervé, une condition fondamentale est réalisée par l'absence d'altérations inflammatoires ou circulatoires dans la patte opérée. Les Grenouilles chez lesquelles l'allure post-opératoire n'a pas été normale (ainsi que les Grenouilles chez lesquelles on a provoqué un trouble de la circulation par la ligature unilatérale de la veine fémorale) présentent, dans le gastrocnémien de la patte opérée, une diminution notable du phosphagène.

7° Pareillement à ce qu'on observe après la section du nerf sciatique, on trouve toujours une différence quantitative entre le phosphagène du gastrocnémien ténotomisé et celui du muscle intact de contrôle. L'analogie va plus loin parce qu'au début c'est le gastrocnémien de la patte opérée qui contient une plus grande quantité de phosphagène, tandis que dans une deuxième période, la quantité de phosphocréatine devient plus grande dans le muscle normal.

8° Si on compare les résultats obtenus dans les gastrocnémiens énervés avec ceux des muscles homologues ténotomisés, on voit que dans la période initiale ce sont les gastrocnémiens paralysés qui contiennent une plus grande quantité de phosphagène ; le contraire s'observe dans la deuxième période.

9° On peut expliquer ces différences entre les muscles énervés et les homologues ténotomisés sans être obligé d'admettre que le dédoublement du phosphagène est lié plutôt à l'excitation nerveuse qu'à la contraction musculaire. Selon toute probabilité, au début

les muscles paralysés contiennent plus de phosphagène parce qu'ils restent en repos complet, tandis que les muscles ténotomisés — se contractant à vide — hydrolysent une certaine quantité de phosphocréatine. Pour ce qui concerne la deuxième période, on peut penser que la quantité de phosphagène devient plus grande dans les muscles ténotomisés comparativement aux muscles énervés, parce que l'atrophie du gastrocnémien (comme le démontre le poids du muscle) se produit plus lentement après la section du tendon d'Achille qu'après la section du nerf sciatique.

10° La méthode du dosage du glycogène n'étant pas comparable par la sensibilité et la précision à celle de BRIGGS pour le dosage du phosphagène, il a été impossible d'établir s'il existe des rapports étroits entre les modifications quantitatives de ces deux substances.

BIBLIOGRAPHIE

D. I. Apostolaki et R. Dériaud. — Variations de la chronaxie au cours de dégénérescences expérimentales. *C. R. Soc. Biolog.*, 1925, XCII, 1842-1484. — Fatigue musculaire et dégénérescence. *Ibid.*, 1925, XCIII, 105-106.

G. M. Bastedo a. L. Irving. — The inorganic phosphorus of Frog muscle in relation to lactacidogen and phosphocreatine. *Amer. Journ. Physiol.*, 1928, LXXXVI, 505-519.

G. Bourguignon. — Sur les variations de la chronaxie au cours de la dégénérescence expérimentale. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, XCIII, 348-350.

F. Bremer et P. Gérard. — Conséquences de l'énervation des muscles striés dans la série des Vertébrés. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, XCII, 1327-1329. — Sur les modifications du gastrocnémien de la Grenouille, consécutives à la section du sciatique. *Ibid.*, 1926, XCIV, 1035-1038.

A. P. Briggs. — A Modification of the Bell-Doisy phosphate Method. *Journ. of Biolog. Chemistry*, 1922, LIII, 13-16.

Th. Chandelon. — Ueber die Einwirkung der Arterienunterbindung und der Nervendurchschneidung auf den Glykogengehalt der Muskeln. *Pflüger's Archiv f. die ges. Physiol.*, XIII, 626-630, 1876.

Claude Bernard. — De la matière glycogène considérée comme condition de développement de certains tissus, chez le fœtus, avant l'apparition de la fonction glycogénique du foie. *C. R. Acad. Sciences*, 1859, XLVIII, 683 (note).

W. Dulière. — Recherches sur le phosphagène. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCVIII, 1252-1254.

Ph. a. Gr. P. Eggleton. — The inorganic phosphate and a labile form of organic phosphate in the gastrocnemius of the Frog. *Biochem. Journal*, 1927, XXI, 190-195.

Ph. and. Gr. P. Eggleton. — The physiological significance of « phosphagen ». *Journal of Physiol.*, 1927, LXIII, 155-161.

Ph. a. Gr. P. Eggleton. — Further observation on phosphagen. *The Journal of Physiol.*, 1928, LXV, 15-24.

G. Falco. — Fosfogeno muscolare e rigidità cadaverica. *Boll. Soc. It. di Biol. Sper.* 1928, III, 222-225.

G. Falco et V. Siracusa. — Autolisi e fosfogeno. *Boll. della Soc. It. di Biol. Sper.* 1929, IV, 409-410.

D. Ferdmann und O. Feinschmidt. — Ueber den Einfluss des Trainierens des Muskels auf seinem Gehalt an Phosphorverbindungen. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.*, CLXXXIII, 261-268, 1928.

C. H. Fiske a. Y. Subbarow. — The colorimetric determination of phsosphorus. *Journal of Biolog. Chemistry*, 1925, LXVI, 375-400.

C. H. Fiske a. Y. Subbarow. — The nature of the « inorganic phosphate » in voluntary muscle. *Science*, 1927, LXV, 401-403. — The « inorganic phosphate » of muscle. *Journ. of Biolog. Chemistry*, 1927, LXXIV, 22. — The isolation and function of phosphocreatine. *Science*, 1928, LXVII, 169-170. — Phosphocreatine. *Journ. of Biolog. Chemistry*, 1929, LXXXI, 629-679.

J. Fontes. — Action de la vératrine et dualisme fonctionnel des éléments musculaires. *Journ. Physiol. et Path. génér.*, 1925, XXIII, 292-305. — Sur la physiologie du muscle énervé de la Grenouille. *C. R. Soc. Biolog.*, 19,25 XCIII, 1545-1547.

H. Gorodissky. — Ueber die anaerobe Resyntese von Phosphokreatin nach der Reizung isolierter Froschmuskeln. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1928, CLXXV, 261-291.

L. Irving. — Phosphoric acid changes in worked Mammalian Muscle. *Amer. Journ. of Physiol.*, 1928, LXXXIII, 395-405.

L. Irving a. G. M. Bastedo. — The inorganic phosphorus of blood and muscle. *Amer. Journ. of Physiol.*, 1928, LXXXVI, 225-237.

L. Irving a. Ph. H. Wells. — The occurence of labile phosphorus in various kinds of muscles. *Journ. of biolog. Chemistry*, 1928, LXXVII, 97-113.

E. Lechnartz. — Ueber Verknüpfung des Aufbaus und Abbaus von Tätigkeitssubstanzen des Muskels. *Zeitsch. f. physiol. Chem.*, CLXXXV, 1-55, 1929.

K. Lohmann. — Ueber die Isolierung verschiedener Phosphorsäure-verbindungen und die Frage ihrer Einheitlichkeit. *Biochem. Zeitschr.*, 1928, CXCIV, 306-327.

E. Manché. — Ueber die das Muskelglykogen betreffenden Angaben von Weiss und Chandelon. *Zeitschr. für Biol.*, XXV, 163-179, 1888.

G. Martino. — Sulla presenza di fosfogeno nel cuore. *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, 1927, II, 1019-1022. — Diverso contenuto in fosfogeno di musculi striati a contrazione rapida ed a contrazione torpida. *Rendic. R. Accad. dei Lincei* 1928 (Ser. 6), VII, 79-82. — Curarizzazione e contenuto in fosfogeno di muscoli striati. *Boll. Soc. It. di Biolg. Sper.*, 1928, III, 114-116. — Sui rapporti fra fosfogeno e contratture muscolari. Ricerche sul muscolo e sul succo muscolare. *Arch. di Fisiol.*, 1928, XXVI, 362-378. — Sul significato delle variozioni del fosfogeno nell'accorciamento muscolare. *Ibid.*, 1928, XXVI, 379-384. — Variazioni del contenuto in fosfogeno dei muscoli striati per azione del cloroformio e di alcuni alcooli. *Boll. Soc. It. di Biol. Sperim.* 1928, III, 225-229. — Ricerca del fosfogeno in vari organi. *Ibid.* 1928, III, 622-623. — Alcune particolari osservazioni sul comportamento del fosfogeno nel succo muscolare. *Ibid.*, 1928, III, 824-826. — Effetti della stimolazione vagale sul fosfogeno del cuore e dello stomaco. *Ibid.*, 1929, IV, 262-264. — Sul comportamento del fosfogeno nel tetano muscolare. *Rendic. R. Acad. Lincei*, IX, 1038-1043, 1929.. — Sul significato fisiologico della fosfocreatina muscolare. *Arch. Farmac. Sper. e Scienze affini*, 31-42, 1929.

G. MARTINO e G. CARBONARO. — Contrattura muscolare da alcuni alcaloidi e fosfogeno. *Boll. della Soc. It. di Biol. Sperim.*, 1928, III, 218-221.

G. MARTINO e G. ZANGHI. — Sulla distribuzione del fosfogeno nei vari tratti delle fibre muscolari. *Boll. Soc. It. di Biol. Sper.* 1928, III, 720-723. — Ancora sulla presenza di fosfogeno nel cuore. *Ibid.*, IV, 551-552.

O. MEYERHOFF. — Ueber die Verbreitung der Argininphosphorsäure in der Muskulatur der Wirbellosen. *Arch. di Scienze Biol.*, 1928, XII, 536-548.

O. MEYERHOFF. — *Naturwissenschaften*, 1929, XVII, 283.

O. MEYERHOFF u. K. LOHMANN. — Ueber die natürlichen Guanidinphosphorsäuren (Phosphagene) in der quergestreiften Muskulatur. Das physiologische. Verhalten der Phosphagene. *Bioch. Zeitschr.*, 1928, CXCVI, 22-48. — Ueber die natürlichen Guanidinphosphorsäuren (Phosphagene) in der quergestreiften Muskulatur. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Guanidinphosphorsäuren. *Ibid.*, 1928, CXCVI, 49-72.

O. MEYERHOFF u. O. NACHMANSOHN. — Neue Beobachtungen über den Umsatz des « Phosphagens » im Muskel. *Die Naturwissensschaften*, 1928, Hft 37-38, XVI, 726-728.

A. MOSCHINI. — Influence exercée par la section du sciatique sur le phosphagène du gastrocnémien de Grenouille. *C. R. Soc. Biol.* 1928, XCIX, 1889-1892.

A. MOSCHINI. — Azione del taglio del tendine di Achille sul fosfogeno contenuto nel gastrocnemio di rana. *Arch. di Fisiol.*, 1930, XXVIII.

D. NACHMANSOHN.— Ueber den Zerfall der Kreatinphosphorsäure in Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. *Bioch. Zeitschr.*, 1928, CXCVI 73-97 et CCVIII 237-256, 1929. — Sur la relation de la chronaxie musculaire avec la décomposition du phosphate de créatine. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, CI, 1086-1087.

A. PALLADIN. — Investigations of the Biochemistry of Creatine Phosphoric acid and other Phosphorus Compounds of the Muscles. XIIIth inter. physiol. Congress. Boston, 1929, p. 466-467.

C. A. PECKELHARING u. C. J. C. van HOOGENHUYZE. — Die Bildung des Kreatins im Muskel beim Tonus und bei der Starre. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1910, LXIV, 262-293.

A. SCHWARTZ et A. OSCHMANN. — Recherches sur la créatine musculaire. L'énervation des muscles striés provoque-t-elle une diminution de la créatine musculaire ? *C. R. Soc. Biol.* 1925, XCIII, 1645-1648.

V. SIRACUSA. — A proposito di alcune osservazioni di P. e Gr. P. Eggleton sul fosfogeno. *Boll. Soc. It. Biol. Sperim.*, 1928, III, 834-841. — Ricerca del fosfogeno nell'utero. *Ibid.*, 1929, IV, 553-555. — Sulla presenza del fosfogeno nei neonati e nei feti a termine, in riguardo anche ai principali muscoli respiratori. *Ibid.*, 1929, IV, 727-731.

G. SOLARINO. — Il fosfogeno in condizioni patologiche. — Comportamento nei colombi alimentati a riso brillato. *Boll. Soc. It. Biol. Sperim.*, 1929, IV, 976-979.

F. G. WATTS. — The effects of curare and denervation upon the electrical excitability of striated muscle. *Journ. of Physiol.* 1924, LIX, 142-152.

G. ZANGHI. — Sulle variazioni del fosfogeno muscolare per effetto della stricnizzazione e della recisione dei nervi. *Boll. Soc. Biol. Sperim.*, 1928, III, 723-726. — Sulla presenza di fosfogeno nella musculatura gastrica di alcuni uccelli. *Ibid.*, 1929, IV, 332-333. — Sulla presenza di fosfogeno nei muscoli lisci. *Ibid.*, 1929, IV, 719-720.

INFLUENZA DELL'IPERGLICEMIA SUL POTERE AMILOLITICO DELLA SALIVA E DEL SANGUE.

Di Tullio Gayda.

(Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia).

I. - Introduzione e Tecnica.

In un mio lavoro (1) dimostrai che nel coniglio l'insulina determina un aumento notevole del potere amilolitico della saliva: infatti questo, durante il periodo convulsivo provocato dall'insulina, diventa da 3 fino a 17 volte maggiore che in condizioni normali; scomparsa l'azione dell'insulina, il potere amilolitico ritorna alla norma. Il potere amilolitico del siero di sangue invece non viene affatto influenzato dall'insulina, o tutt'al più presenta, durante il periodo convulsivo, un lievissimo aumento.

Per spiegare l'aumento del potere amilolitico della saliva prodotto dall'insulina, ammisi, dal punto di vista teleologico, che tale aumento rappresenti un fenomeno di difesa dell'organismo, sia dovuto cioè al fatto che l'organismo, impoverito di idrati di carbonio per azione dell'insulina, reagisca aumentando la quantità di amilasi, che viene secreta colla saliva, così che più rapidamente vengano saccarificati e quindi utilizzati i polisaccaridi, che eventualmente si introducono cogli alimenti.

Per controllare l'attendibilità di questa spiegazione, volli riprendere l'argomento e ricercare come si comporti il potere amilolitico della saliva e del siero di sangue quando l'organismo si trovi in condizioni opposte a quelle prodottte dall'insulina. A questo scopo cominciai collo studiare l'influenza dell'iperglicemia, determinata con procedimenti sperimentali diversi, e nel presente lavoro riferisco i risultati ottenuti da queste ricerche.

Provocavo l'iperglicemia nei conigli con tre mezzi diversi: iniettando sotto cute una notevole quantità di glucosio, oppure iniettando,

pure sotto cute, dell'adrenalina, oppure infine praticando la puntura del pavimento del IV ventricolo.

Determinavo anzitutto, in condizioni normali, la quantità di glucosio nel sangue, il potere amilolitico della saliva e del siero di sangue e ricercavo il glucosio nell'orina. Nel giorno seguente, provocavo l'iperglicemia con uno dei mezzi ora indicati e quindi, un'ora dopo, nel caso dell'iniezione di glucosio, o tre ore dopo, nel caso dell'iniezione di adrenalina o in quello della puntura del pavimento del IV ventricolo, determinavo nuovamente la quantità di glucosio nel sangue e nell'orina ed il potere amilolitico della saliva e del siero. Infine ripetevo tutte queste determinazioni nel giorno seguente a quello in cui avevo provocato l'iperglicemia.

Raccoglievo il sangue dall'animale trafiggendo, con un grosso ago a sezione triangolare, una vena dell'orecchio, dopo di avere iperemizzato questo, mediante frizioni con xilolo.

Utilizzavo le prime gocce di sangue, che defluivano dalla ferita, per la determinazione della quantità di glucosio, che eseguivo col micrometodo di Bang (2).

Centrifugavo gli altri 7 o 8 cm^3 di sangue, che si potevano ancora raccogliere dalla ferita, per ottenerne il siero. Iniziavo la centrifugazione solo dopo che il sangue era completamente coagulato.

Ricercavo qualitativamente il glucosio nell'orina col liquido del Nyländer. Eseguivo l'analisi sull'orina delle 24 ore emessa spontaneamente dall'animale, o, se era il caso, ottenuta mediante pressione esercitata sulla vescica, attraverso alle pareti addominali. Determinavo quantitativamente il glucosio nell'orina mediante il polarimetro, dopo di avere decolorato l'orina con carbone animale.

Come negli esperimenti eseguiti coll'insulina, per ottenere dagli animali la saliva, instillavo nel sacco congiuntivale di un occhio 3 gocce di una soluzione di cloridrato di pilocarpina al 2 % e adoperavo per l'analisi sempre solo i primi 3 cm^3 di saliva, che defluivano dalla bocca.

Determinavo il potere amilolitico della saliva e del siero di sangue col metodo originale di Wohlgemuth (3), che consiste nel ricercare la quantità minima di saliva o di siero, che trasforma completamente in destrine 5 cm^3 di una soluzione di amido solubile all'1 %, rispettivamente in 1 ora o in 24 ore, alla temperatura di 38° C. Il procedimento, che io seguivo, è quello stesso da me seguito nelle mie ricerche precedenti coll'insulina e perciò rimando a queste per i dettagli. Dirò solo che, secondo il metodo di Wohlgemuth, il potere

amilolitico della saliva e quello del siero sono contraddistinti rispettivamente dal simbolo $D_1{}^h$ e $D_{24}{}^h$ e sono espressi dal numero di centimetri cubici della soluzione di amido solubile all'1 %, che sono trasformati in destrine da 1 cm³ di saliva o di siero, rispettivamente in 1 ora o in 24 ore, alla temperatura di 38° C.

Per quanto riguarda i mezzi usati per ottenere l'iperglicemia, ricorderò quanto segue.

Iniettavo sempre il glucosio sotto cute, in quantità di 10 g, sciolti in 40 cm³ di acqua distillata. La soluzione, divisa in 4 o 5 porzioni, veniva iniettata in punti diversi, preferibilmente sotto la cute dei fianchi.

Anche l'adrenalina era iniettata sotto cute, perchè, come risulta dalle ricerche di Pollak (4), nel coniglio l'adrenalina, iniettata sotto cute, produce una iperglicemia molto maggiore che non quando è iniettata nelle vene, così che solo nel primo caso l'iperglicemia è accompagnata da glicosuria. La soluzione adoperata era quella di cloridrato di adrenalina all' 1 °/₀₀ di Parke, Davis e C. Iniettavo sempre 2 cm³ di questa soluzione, che contenevano perciò 2 mg.

Praticavo la puntura del pavimento del IV ventricolo, seguendo esattamente le indicazioni date da Claude Bernard (5).

A questo scopo, facevo uso dello strumento consigliato da Claude Bernard, che consiste di un'asta di acciaio, di cui un'estremità è appiattita, assottigliata e tagliente come un piccolo scalpello; nel mezzo della lama e nell'asse dello strumento l'asta si prolunga in una piccola punta molto acuta, lunga 1 mm circa.

Come è noto, il punto, che deve essere leso dallo strumento, si trova nel pavimento del IV ventricolo, sulla linea mediana, nell'intervallo compreso fra due linee orizzontali tirate l'una in corrispondenza delle radici dei due nervi acustici, l'altra in corrispondenza di quelle dei due nervi vaghi. Se la lesione non fosse fatta esattamente sulla linea mediana del pavimento del IV ventricolo e interessasse uno dei peduncoli del cervelletto, l'iperglicemia e la glicosuria si produrrebbero ugualmente, ma l'animale potrebbe presentare convulsioni o movimenti disordinati, che disturberebbero gli esperimenti. Per ovviare a questi inconvenienti, è necessario usare la massima accuratezza nell'eseguire la puntura.

Eseguivo l'operazione, senza praticare alcuna narcosi, nel modo seguente. Fissato l'animale in posizione prona al tavolo d'operazione, facevo tenere saldamente il capo ad un assistente e praticavo una piccola incisione della cute, nella parte posteriore del capo e in

direzione sagittale, allo scopo di mettere allo scoperto il tubercolo occipitale, che si trova al davanti della protuberanza occipitale esterna (6). Subito al di dietro del tubercolo occipitale, infiggevo lo strumento nell'osso e lo facevo procedere compiendo leggeri movimenti di lateralità, fino a che esso era penetrato nella cavità cranica. Dirigevo allora lo strumento in un piano sagittale, obliquamente dall'alto al basso e dall'indietro in avanti, in modo che esso andasse ad incrociare una linea, che congiungeva un condotto uditivo esterno all'altro, lo spingevo fino a che la sua punta avesse raggiunto la *pars basilaris* dell'osso occipitale e infine lo ritiravo con precauzione. Nel momento, in cui lo strumento perforava il bulbo, era necessario che l'assistente tenesse molto saldamente il capo dell'animale, per impedire che questo compisse il minimo movimento, ciò che avrebbe potuto far deviare lo strumento e produrre lesioni molto gravi ed estese, tali da determinare anche la morte.

Tabella I.

Esperimenti eseguiti su conigli ai quali fu iniettato glucosio.

Numero e sesso del coniglio	Data 1928	Peso del corpo kg	Ore dopo la iniezione	Sangue Glucosio ‰	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$	Orina	
							Quantità in 24 ore cm³	Glucosio %
I ♀	5-VI	1,720	—	1,09	62	39	38	0
	6-VI	1,740	1	3,62	250	39	72	1,78
	7-VI	1,750	25	1,20	78	39	54	tracce
II ♂	8-VI	2,080	—	0,94	78	31	42	0
	9-VI	2,120	1	2,93	200	31	63	1,35
	10-VI	2,140	25	1,08	98	31	28	0
V ♂	18-VI	1,770	—	1,16	39	25	51	0
	19-VI	1,800	1	4,11	125	25	95	2,07
	20-VI	1,790	25	1,35	39	25	43	tracce
X ♀	11-VII	1,930	—	1,08	98	31	36	0
	12-VII	1,950	1	3,26	156	31	64	1,92
	13-VII	1,980	25	1,11	62	31	39	0

Il vantaggio, che presenta l'uso dello strumento consigliato da Claude Bernard, consiste nel fatto che la parte tagliente di esso perfora successivamente il cervelletto, i fasci posteriori e medi del bulbo, ma, per la presenza della piccola punta, non lede affatto i fasci anteriori (piramidali) del bulbo e non determina perciò convulsioni o movimenti disordinati.

II. - Risultati sperimentali.

I risultati ottenuti dagli esperimenti sono raccolti nelle tabelle I, II e III.

I dati contenuti nella tabella I dimostrano che l'iperglicemia, provocata da un'iniezione sottocutanea di glucosio, è sempre accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva. Tale aumento non è molto cospicuo: oscilla fra il 50 % e il 300 %. Esso si

Tabella II.

Esperimenti eseguiti su conigli ai quali fu iniettata adrenalina.

Numero e sesso del coniglio	Data 1928	Peso del corpo kg	Ore dopo la iniezione	Sangue Glucosio ‰	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$	Orina Quantità in 24 ore cm³	Orina Glucosio %
III ♀	11-VI	1,700	—	1,02	156	39	54	0
	12-VI	1,750	3	3,50	250	25	87	1,23
	13-VI	1,710	27	1,10	98	39	44	0
IV ♀	14-VI	1,750	—	1,16	62	25	45	0
	15-VI	1,810	3	4,03	78	16	106	2,02
	16-VI	1,790	27	1,09	39	25	37	0
VIII ♀	5-VII	1,810	—	1,17	98	39	27	0
	6-VII	1,830	3	3,32	250	25	68	2,25
	7-VII	1,800	27	1,24	125	39	40	tracce
IX ♂	8-VII	2,120	—	0,97	50	31	35	0
	9-VII	2,160	3	3,80	200	20	95	1,56
	10-VII	2,160	27	1,01	62	31	24	0

manifesta già un'ora dopo l'iniezione, cioè proprio quando, come esperimenti preliminari di controllo mi avevano dimostrato, l'iperglicemia è giunta al massimo. Scomparsa l'iperglicemia, il potere amilolitico della saliva ritorna alla norma. Il potere amilolitico del siero invece non subisce alcuna modificazione in conseguenza dell'iniezione di glucosio.

È da notare che, analogamente a quanto osservai durante il periodo convulsivo provocato dall'insulina, la velocità, con cui la saliva viene secreta, diminuisce quando si ha l'iperglicemia. La diminuzione, se non è così accentuata come quella che si verifica per azione della insulina, è tuttavia tale che il tempo necessario per raccogliere i 3 cm^3 di saliva può anche raddoppiarsi, in confronto con quello richiesto in condizioni normali. Così nei conigli I e V, mentre prima dell'iniezione di glucosio tale tempo era rispettivamente di 11' 25'' e di 13' 20'', un'ora dopo era aumentato a 26' 15'' e a 24' 30''.

Degno di rilievo è poi il fatto che la glicosuria, che si osserva dopo l'iniezione di glucosio, è accompagnata da poliuria. Questo fatto è dovuto all'azione diuretica degli zuccheri, dimostrata per la prima volta da Moutard-Martin e Richet (7) e confermata in seguito da molti altri autori.

Dall'esame della tabella II risulta che anche l'iperglicemia prodotta da una iniezione sottocutanea di adrenalina è accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva. Anche in questo caso l'aumento non è molto rilevante, perchè oscilla fra il 25 % e il 300 %. Il potere amilolitico del siero subisce invece una diminuzione del 30 % circa. Benchè tale diminuzione non sia molto pronunziata, tuttavia essa è degna di nota, data l'assoluta costanza del potere amilolitico del siero nello stesso animale, in condizioni normali, anche a distanza di tempo. Questa diminuzione non fu riscontrata da Wohlgemuth (8), da Moeckel e Rost (9), da Watanabe (10) e da Karsner, Koeckert e Wahl (11); solo Cohen (12) riuscì a constatarla. Scomparsa l'iperglicemia, tanto il potere amilolitico della saliva, quanto quello del siero ritornano alla norma.

Anche dopo l'iniezione di adrenalina, come dopo quella di glucosio, la velocità, con cui la saliva viene secreta, diminuisce quando si ha iperglicemia, in modo che il tempo necessario per raccogliere i 3 cm^3 di saliva può giungere a raddoppiarsi. Così nei conigli IV e VIII, mentre prima dell'iniezione di adrenalina tale tempo era rispettivamente di 16'20'' e di 9'50'', tre ore dopo era aumentato a 34'35'' e a 22'10''.

Infine anche la glicosuria determinata dall'iniezione di adrenalina, come quella prodotta dall'iniezione di glucosio, è accompagnata da poliuria. Ciò concorda perfettamente con quanto aveva già osservato Biberfeld (13). Questo autore infatti aveva constatato che l'adrenalina, iniettata sotto cute nei conigli, determina un forte aumento della diuresi.

Tabella III.

Esperimenti eseguiti su conigli ai quali fu praticata la puntura del pavimento del IV ventricolo.

Numero e sesso del coniglio	Data 1928	Peso del corpo kg	Ore dopo la puntura	Sangue Glucosio ‰	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$	Orina Quantità in 24 ore cm^3	Orina Glucosio %
VI ♀	29-VI	2,120	—	1,15	62	39	48	0
	30-VI	2,150	3	2,52	125	39	74	2,22
	1-VII	2,070	27	1,22	50	39	38	tracce
VII ♀	2-VII	1,950	—	1,01	31	31	43	0
	3-VII	1,960	3	2,31	78	31	86	2,17
	4-VII	1,850	27	0,98	39	31	52	0
XI ♂	17-VII	1,860	—	1,04	78	39	51	0
	18-VII	1,900	3	2,62	250	39	76	1,85
	19-VII	1,810	27	1,21	125	39	42	tracce
	20-VII	1,720	51	1,10	98	39	37	0
XII ♀	23-VII	1,700	—	1,12	50	39	34	0
	24-VII	1,730	3	3,19	250	39	67	2,38
	25-VII	1,610	27	1,18	78	39	25	0
XIII ♂	26-VII	2,070	—	0,95	39	31	56	0
	27-VII	2,090	3	2,43	98	31	63	1,64
	28-VII	1,950	27	1,14	50	31	60	0

Se si prendono in considerazione da ultimo i dati contenuti nella tabella III, si rileva che, dopo la puntura del pavimento del IV ventricolo, si verificano precisamente gli stessi fatti osservati

dopo l'iniezione sottocutanea di glucosio. Cioè anche l'iperglicemia determinata da tale puntura è accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva. Questo aumento è perfino un po' maggiore di quello constatato dopo l'iniezione di glucosio, perchè oscilla fra il 100 % ed il 400 %. Scomparsa l'iperglicemia, il potere amilolitico della saliva riacquista i valori normali. Il potere amilolitico del siero invece non viene affatto influenzato dalla puntura del pavimento del IV ventricolo. Anche Moeckel e Rost (9) e Karsner, Koeckert e Wahl (11) non trovarono alcuna modificazione del potere amilolitico del sangue dopo la puntura. Magat (14) invece riscontrò un aumento passeggero.

Contrariamente a ciò che si verifica dopo l'iniezione di glucosio o di adrenalina, la velocità, con cui la saliva viene secreta, aumenta quando si ha iperglicemia, in seguito alla puntura del pavimento del IV ventricolo. Il tempo necessario per raccogliere i 3 cm^3 di saliva può ridursi a meno della metà, in confronto con quello occorrente in condizioni normali. Così nei conigli VI, XII e XIII, mentre prima della puntura tale tempo era rispettivamente di 9'40'', 16'50'' e 14'5'', tre ore dopo era diminuito a 5'25'', 6'35'' e 6'5''.

Per quanto riguarda il comportamento degli animali dopo la puntura del pavimento del IV ventricolo, esso corrispondeva a quello descritto da Claude Bernard (15). Al momento della puntura, gli animali manifestavano un dolore molto vivo e presentavano movimenti muscolari disordinati e violenti. Lasciati liberi, cadevano su un fianco, come paralizzati. I movimenti respiratori diventavano frequenti e profondi. Talvolta si osservava qualche leggera scossa muscolare. Gli occhi erano largamente aperti. Sovente si aveva salivazione, che talvolta era molto abbondante, come nel coniglio XII, ma che presto cessava; in relazione con questo fatto sta forse l'aumento sopra ricordato della velocità, con cui veniva secreta successivamente la saliva per effetto della pilocarpina. Dopo una mezz'ora o al massimo dopo tre o quattro ore, gli animali si rimettevano: dapprima erano un po' irrequieti e facilmente irritabili, ma poi si tranquillizzavano e potevano camminare senza cadere. Un solo animale, e cioè il coniglio VII, presentò, in conseguenza della puntura, incurvamento del corpo (pleurototono) verso sinistra; in questo caso evidentemente la lesione non era stata fatta esattamente sulla linea mediana del pavimento del IV ventricolo e interessava un peduncolo cerebellare. L'orina, dopo la puntura, come risulta dalla tabella III e in accordo con quanto osservò Claude Bernard, era quasi sempre

più abbondante che in condizioni normali, inoltre era limpida e spesso acida; la quantità di glucosio in essa contenuta e la durata della glicosuria corrispondevano presso a poco a quelle constatate da Claude Bernard. Anche la quantità di glucosio contenuta nel sangue corrispondeva approssimativamente a quella trovata da questo autore (16).

III. - Discussione dei risultati sperimentali.

Volendo riassumere in breve i risultati più importanti dei miei esperimenti, si deve concludere che l'iperglicemia, sia essa determinata da una iniezione sottocutanea di glucosio o di adrenalina, sia essa prodotta dalla puntura del pavimento del IV ventricolo, è sempre accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva; colla scomparsa dell'iperglicemia tale potere ritorna ai valori normali. Il potere amilolitico del siero invece, nelle stesse condizioni, non subisce alcuna modificazione, se si eccettua una leggera diminuzione dopo l'iniezione di adrenalina.

Dato lo scarso potere amilolitico del siero e l'assenza o quasi di modificazioni di questo potere quando vi è iperglicemia, si deve escludere che l'aumento del potere amilolitico della saliva, che accompagna l'iperglicemia, sia dovuto a passaggio di amilasi dal sangue nella saliva.

E poichè, qualunque sia il mezzo col quale si è ottenuta l'iperglicemia, sempre si verifica contemporaneamente un aumento del potere amilolitico della saliva, si deve concludere che tale aumento è una conseguenza dell'iperglicemia.

Il potere amilolitico della saliva aumenta dunque non solo nell'ipoglicemia da insulina, ma anche nelle iperglicemie. Ora ciò sembra contraddire apertamente alla spiegazione che io ho dato dell'aumento di questo potere, che si verifica per azione dell'insulina.

Ma la contraddizione forse è solo apparente e l'aumento del potere amilolitico della saliva, che accompagna l'iperglicemia, è sempre determinato da un'unica causa, cioè dall'insulina.

Per comprendere per quale meccanismo ciò possa avvenire, occorre ricordare le ricerche di Zunz e La Barre sulle variazioni della quantità di insulina nel sangue in diverse condizioni sperimentali. Questi autori, per poter studiare queste variazioni, praticarono l'anastomosi della vena pancreatica principale di un cane datore colla giugulare di un cane recettore, privato delle capsule surre-

nali (17, 18). L'asportazione delle capsule fu eseguita perchè, come è noto, l'azione dell'insulina, dopo questa operazione, è aumentata, in seguito alla soppressione della scarica di adrenalina nel sangue, scarica che si produce ogni qual volta aumenta l'insulina nel sangue.

Zunz e La Barre (19, 20), valendosi di questa tecnica, constatarono anzitutto un aumento della quantità di insulina contenuta nel sangue venoso pancreatico dopo l'iperglicemia provocata da una iniezione di glucosio. Infatti, separando i due cani mezz'ora dopo che nella safena del datore avevano iniettato 50-60 cm^3 di una soluzione di glucosio al 20 %, gli autori trovarono che nel cane recettore la quantità di glucosio contenuta nel sangue diminuiva a 2/3 circa del suo valore normale e rimaneva tale per un certo tempo, oppure tendeva a diminuire ulteriormente. Zunz e La Barre (21, 20), riuscirono perfino a dimostrare che l'aumento della quantità di insulina nel sangue venoso pancreatico, che si verifica in queste condizioni, è d'origine vagale, perchè, se il cane datore è vagotomizzato o atropinizzato, l'iniezione di glucosio in questo non determina più affatto iperinsulinemia; infatti nel cane recettore non si produce più ipoglicemia. Inoltre Zunz e La Barre (22, 20, 23), combinando la circolazione attraverso alla testa isolata di cane, secondo il metodo di De Sommer e Heymans, coll'anastomosi pancreatico-giugulare, poterono dimostrare che l'iperinsulinemia, consecutiva all'iperglicemia provocata dall'iniezione di glucosio, è dovuta ad un'azione diretta dall'iperglicemia sui centri nervosi superiori, i quali reagiscono determinando, coll'intermediario dei vaghi, un'iperinsulinemia compensatrice.

Valendosi sempre della stessa tecnica, Zunz e La Barre (24, 20) trovarono che anche un'iniezione di adrenalina produce un aumento della quantità di insulina contenuta nel sangue venoso pancreatico, perchè, dopo l'iniezione endovenosa di 1 mg di cloridrato di adrenalina nel cane datore, si verifica in quello recettore una ipoglicemia notevole, che si accentua in seguito. L'iperinsulinemia, che si produce in queste condizioni, non è d'origine vagale, come quella consecutiva ad un'iniezione di glucosio, perchè si manifesta anche dopo la vagotomia o l'atropinizzazione (25, 20), ma sarebbe dovuta ad una azione stimolante diretta dell'adrenalina sulle isole del Langerhans. Infatti Zunz e La Barre (26) osservarono che, se si trapianta un pancreas di cane normale sulla circolazione carotido-giugulare di un altro cane, privato del pancreas e delle capsule sur-

renali, e poi si inietta in questo cane dell'adrenalina, si produce in esso una ipoglicemia, che riconosce, con tutta probabilità, come causa, una scarica di insulina nel sangue venoso del pancreas trapiantato.

I risultati ottenuti da Zunz e La Barre furono confermati da altri autori con metodi diversi.

Così Häusler e Loewi (27), per studiare la secrezione di insulina, si valsero della proprietà, da loro dimostrata, che hanno i corpuscoli rossi umani di assumere più glucosio da un plasma contenente insulina che da uno che ne è privo. Essi constatarono che l'iniezione sottocutanea di 10 cm^3 di una soluzione di glucosio al 40 % nel coniglio determina, già dopo un'ora, un aumento della quantità di glucosio, che i corpuscoli rossi umani assumono, quando siano immersi nel plasma di coniglio. Ciò indica un aumento della quantità di insulina in questo plasma. Il fenomeno non avviene più dopo vagotomia o atropinizzazione.

Anche Grafe e Meythaler (28) sostengono che il glucosio provochi la formazione di insulina e ne sia anzi l'ormone. Questi autori iniettarono 3-5 g di glucosio, sciolti in 5-7,5 cm^3 di acqua, nell'arteria pancreatico-duodenale del cane a digiuno, o nell'arteria femorale, o nella vena porta, o nell'arteria epatica e osservarono che, dopo l'iniezione nell'arteria pancreatico-duodenale, la quantità di glucosio contenuta nel sangue rimane costante o diminuisce, mentre, dopo l'iniezione negli altri vasi, si produce iperglicemia. Questo fatto si verifica anche dopo il taglio di tutti i nervi e la cauterizzazione della parete dell'arteria pancreatico-duodenale con soluzione concentrata di fenolo.

In conclusione, si può ritenere come dimostrato che tanto l'iperglicemia prodotta da una iniezione di glucosio, quanto quella prodotta da una iniezione di adrenalina, determinano un aumento della secrezione di insulina. Per quanto riguarda la puntura del pavimento del IV ventricolo, non è dimostrato finora che essa provochi pure una maggiore produzione di insulina. È da tenere presente però che l'iperglicemia, provocata da tale puntura, è dovuta, in ultima analisi, come è noto, ad una scarica di adrenalina nel sangue determinata da un eccitamento, che dai centri nervosi giunge alle capsule surrenali per via dello splancnico. È bensì vero che Kahn (29), che ha sottoposto ad una rigorosa critica tutte le ricerche compiute intorno alla questione dei rapporti esistenti fra la puntura del pavi-

mento del IV ventricolo e le capsule surrenali, sostiene che gli effetti di questa puntura non sono in relazione esclusivamente colle capsule surrenali, ma dipendono anche da altri fattori, ma è pur vero che egli non nega che l'adrenalina abbia una parte importante nel determinismo degli effetti della puntura del pavimento del IV ventricolo. È lecito perciò ammettere che, anche in conseguenza di questa puntura, si verifichi un aumento della secrezione di insulina.

In queste condizioni, se l'iperglicemia, comunque prodotta, da un'iniezione di glucosio o di adrenalina, o dalla puntura del pavimento del IV ventricolo, provoca una maggiore formazione di insulina, l'aumento del potere amilolitico della saliva, osservato in tutti i miei esperimenti, è facilmente spiegabile: esso è determinato dall'iperinsulinemia. Sotto questo punto di vista, le mie precedenti ricerche intorno all'azione dell'insulina sul potere amilolitico della saliva risulterebbero confermate. Se l'aumento di tale potere nell'iperglicemia, come risulta dai miei esperimenti, non è così pronunziato come quello che si verifica durante il periodo convulsivo provocato dall'insulina, ciò è dovuto senza dubbio al fatto che nel primo caso l'iperinsulinemia è minore che nel secondo.

I risultati da me ottenuti fanno intravedere quanto debba essere complesso il meccanismo della regolazione della quantità di glucosio contenuta nel sangue. Infatti, se la glicemia è mantenuta nei suoi limiti normali per una gran parte dell'antagonismo fra adrenalina e insulina, così che, come risulta dalle ricerche di Cannon, Iver e Bliss (30, 31) e da quelle di Houssay, Lewis e Molinelli (32), ogni aumento della quantità di insulina nel sangue determina un corrispondente aumento della quantità di adrenalina, la regolazione della glicemia può compiersi in parte anche per un altro meccanismo, cioè per l'azione favorevole che l'insulina esercita sulla secrezione dell'amilasi della saliva e quindi sulla saccarificazione dei polisaccaridi, che si introducono cogli alimenti.

Infine degna di nota è la diminuzione del potere amilolitico del siero, che accompagna l'iperglicemia provocata dall'adrenalina e che manca invece nelle altre forme di iperglicemia da me sperimentate. Questa diminuzione non dipende certamente dall' iperinsulinemia prodotta dall'iperglicemia adrenalinica, perchè, se ciò fosse, si dovrebbe verificare non una diminuzione, ma un aumento. Essa si deve invece attribuire direttamente all'adrenalina, come dimostrerò in un prossimo lavoro.

IV. - Conclusioni.

1. - L'iperglicemia, prodotta nel coniglio da una iniezione sottocutanea di glucosio o di adrenalina, o dalla puntura del pavimento del IV ventricolo, è accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva. Scomparsa l'iperglicemia, tale potere ritorna alla norma.

2. - Nelle stesse condizioni, il potere amilolitico del siero di sangue non subisce alcuna modificazione, se si eccettua una leggera diminuzione dopo l'iniezione di adrenalina.

3. - L'aumento del potere amilolitico della saliva, che accompagna l'iperglicemia, è con tutta probabilità dovuto all'iperinsulinemia determinata dalla stessa iperglicemia.

V. - BIBLIOGRAFIA.

(1) Gayda T. - Influenza dell'insulina sul potere amilolitico della saliva e del sangue. Questo *Archivio*, 1928 **12**, 197.

(2) Bang I. - Mikromethoden zur Blutuntersuchung, VI Aufl., München, 1927, p. 41.

(3) Wohlgemuth J. - Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. *Biochem. Zeitschr.*, 1908, **9**, 1.

(4) Pollak L. - Experimentelle Studien über Adrenalin-Diabetes. I. Über Unterschiede im Verhalten des aus Glukose bezw. Lävulose gebildeten Leberglykogenes bei Adrenalinanwendung. *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.*, 1909, **61**, 149.

(5) Bernard C. - Leçons de physiologie expérimentale appliquée à la médecine. Paris, 1885, **1**, 290 e seg.

(6) Cyon E. - Methodik der physiologischen Experimente und Vivisektionen. Giessen, 1876, p. 551.

(7) Moutard-Martin R. et Richet C. - Recherches expérimentales sur la polyurie. *Arch. de Physiol.*, 1881, **8**, 1.

(8) Wohlgemuth J. - Untersuchungen über die Diastasen III. Das Verhalten der Diastase im Blut. *Biochem. Zeitschr.*, 1909, **21**, 381.

(9) Moeckel K. und Rost F. - Über den Ursprung und die Bedeutung des amylolytischen Blutferments. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1910, **67**, 433.

(10) Watanabe C. K. - Studies on animal diastases. II. The effect on the administration of various substances on the blood diastase of rabbits. *Americ. Journ. of Physiol.*, 1917, **45**, 30.

(11) Karsner H. T., Koeckert H. L. and Wahl S. A. - The diastatic activity of the blood in experimental hyperglycemia. *Journ. of exp. Med.*, 1921, **34**, 349.

(12) Cohen S. J. - Blood diastases in relation to blood sugar. *Journ. of Pharmacol. a. exp. Therapeut.*, 1924, **23**, 151.

(13) Biberfeld J. - Beiträge zur Lehre von der Diurese. XIII. Über die Wirkung des Suprarenins auf die Harnsekretion. *Pflüger's Arch.*, 1907, **119**, 341.

(14) Magat J. - Der Einfluss der vegetativen Zentren auf den Diastase-und Katalasegehalt des Blutes. *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.*, 1923, **36**, 105.

(15) Bernard C. - Leçons sur la physiologie et la pathologie du système nerveux. Paris, 1858, **1**, 404.

(16) Bernard C. - Leçons sur le diabète et la glycogènese animale. Paris, 1877, p. 385.

(17) La Barre J. - Sur l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique après excitation du nerf vague. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.* 1927, **96**, 193.

(18) La Barre J. - Contribution à l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancréas. - I. Démontration de l'existence d'une insulinémie physiologique. - II. Le pneumogastrique, nerf insulino-sécréteur. - III. Rôle du système nerveux dans la régulation de l'insulinémie physiologique. *Arch. internat. de Physiol.* 1927, **29**, 227.

(19) Zunz E. et La Barre J. - Sur l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique après l'hyperglycémie provoquée par injection de glucose. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.* 1927, **96**, 421.

(20) Zunz E. et La Barre J. - Contribution à l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancréas. - IV. De l'hyperinsulinémie consécutive à l'hyperglycémie provoquée par injection de dextrose. - V. De l'hyperinsulinémie consécutive à l'injection d'adrénaline. *Arch. internat. de Physiol.*, 1927, **29**, 265.

(21) Zunz E. et La Barre J. - Sur les causes de l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique lors de l'hyperglycémie provoquée par l'injection de dextrose. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.*, 1927, **96**, 708.

(22) Zunz E. et La Barre J. - Sur la sensibilité des centres nerveux supérieurs à l'hyperglicémie provoquée par injection de dextrose. *Ibidem*, 1927, **96**, 1400.

(23) Zunz E. et La Barre J. - Influence de l'hyperclycémie et de l'hypoglycémie des centres nerveux supérieurs sur la sécrétion interne du pancréas. *Ann. de Physiol.*, 1928, **4**, 688.

(24) Zunz E. et La Barre J. - Sur l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique après injection d'adrénaline *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.*, 1927, **96**, 710.

(25) Zunz E. et La Barre J. - Sur les causes de l'augmentation de la teneur en insuline du sang veineux pancréatique après l'injection intraveineuse d'adrénaline. *Ibidem*, 1927, **97**, 917.

(26) Zunz E. et La Barre J. - Action stimulante directe de l'adrénaline sur les îlots de Langerhans. *Ibidem*, 1928, **98**, 858.

(27) Häusler H. und Loewi O. - Über hormonale Vorgänge nach Glucosezufuhr. I Mitt. Über Insulinsekretion nach subcutaner Glucosezufuhr,

ihre quantitative Verfolgung und ihren Mechanismus. *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.*, 1927, **123**, 72.

(28) Grafe E. und Meythaler F. - Beitrag zur Kenntnis der Regulation der Insulinproduktion. I Mitt. Der Traubenzucker als Hormon für die Insulinabgabe. *Ibidem*, 1927, **125**, 181.

(29) Kahn R. H. - Über die nach zentraler Reizung zur Störung des Kohlehydratstoffwechsels führenden Vorgänge. Eine kritische Studie zur Frage: Zuckerstich und Nebennieren. *Pflüger's Arch.*, 1917, **169**, 326.

(30) Cannon W. B., Iver M. A. Mc and Bliss S. W. - The effect of the blood-sugar level on adrenal secretion and symphathetic activity. A prelim. note. *Boston med. a. surg. Journ.*, 1923, **189**, 141.

(31) Cannon W. B., Iver M. A. Mc and Bliss S. W. - Studies on the conditions of activity in endocrine glands. XIII. A sympathetic and adrenal mechanism for mobilizing sugar in hypoglycemia. *Americ. Journ. of Physiol.*, 1924, **69**, 46.

(32) Houssay B. A., Lewis J. T. et Molinelli E. A. - Rôle de la sécrétion d'adrénaline pendant l'hypoglycémie produite par l'insuline. - *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.*, 1924, **91**, 1011.

INFLUENZA DELL'ASPORTAZIONE DELLE CAPSULE SURRENALI SUL POTERE AMILOLITICO DELLA SALIVA E DEL SANGUE.

Di Tullio Gayda.

(Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia)

I. - Introduzione e tecnica.

In continuazione delle mie ricerche sulle variazioni del potere amilolitico della saliva e del sangue in diverse condizioni sperimentali (1, 2), volli indagare anche l'influenza dell'asportazione delle capsule surrenali.

Ricorderò, a questo proposito, che nelle mie precedenti ricerche (2) studiai già l'influenza di iniezioni sottocutanee di adrenalina e trovai che l'iperglicemia provocata da tali iniezioni, come quella prodotta con altri mezzi, è accompagnata da un aumento del potere amilolitico della saliva, che oscilla fra il 25 % e il 300 %. Il potere amilolitico del siero, che non varia affatto nelle altre forme di iperglicemia, subisce invece, dopo l'iniezione di adrenalina, una diminuzione del 30 % circa. Mentre attribuii l'aumento del potere amilolitico della saliva, che accompagna l' iperglicemia, all' iperinsulinemia determinata dalla stessa iperglicemia, negai che la contemporanea diminuzione del potere amilolitico del siero potesse dipendere dall'iperinsulinemia, perchè, se ciò fosse, si dovrebbe verificare non una diminuzione, ma un aumento. Conclusi perciò che tale diminuzione è dovuta direttamente all'adrenalina e mi riservai di darne la dimostrazione in un successivo lavoro. I risultati del presente lavoro confermano pienamente le mie previsioni.

Eseguivo l'asportazione delle capsule surrenali nei conigli, colle regole dell'asepsi, per via transperitoneale, in un sol tempo, con o senza narcosi; questa era ottenuta mediante iniezione sottocutanea di 0,5 g di cloralio idrato, in soluzione al 25 %, per kg del peso del corpo. Fissato l'animale in posizione supina sul tavolo d'operazione,

praticavo una incisione della parete addominale, lungo la linea alba, dall'appendice xifoide fin sotto l'ombelico. Cominciavo quindi ad asportare la capsula surrenale destra, che è quella che presenta le maggiori difficoltà tecniche per essere asportata. A questo scopo, toglievo dalla cavità addominale la matassa intestinale, che spostavo verso il lato sinistro dell'animale e mantenevo avvolta da un panno imbevuto di soluzione fisiologica di cloruro sodico, riscaldata alla temperatura del corpo. La capsula surrenale destra, nel coniglio, si trova nascosta dietro la vena cava inferiore, all'altezza della XII vertebra dorsale, quasi in corrispondenza allo sbocco della vena renale destra. Per poterla asportare, dopo di avere tagliato il legamento epato-renale, dilaceravo, preferibilmente con strumenti ottusi, il peritoneo ed il connettivo circostante, facevo spostare medialmente da un assistente la vena cava, per mettere allo scoperto la capsula surrenale, che aderisce fortemente alla parete posteriore della vena. Isolavo cautamente, quanto più era possibile, sempre con strumenti ottusi, la capsula surrenale, in modo quasi da peduncolarla, e quindi, afferratala con due dita, la stiravo, così da sollevare con essa una piega della parete della vena. Passato un laccio attorno a questa piega, coll' aiuto dell' assistente, lo annodavo, in modo che nella legatura fosse compresa solo la piega della parete della vena e non affatto la capsula surrenale. Asportavo la maggior parte dell'organo tagliandolo colle forbici ed estirpavo le ultime porzioni, facilmente distinguibili per il loro colorito giallo, strappandole colle pinze. Spostata la matassa intestinale verso il lato destro dell'animale, procedevo, colla stessa tecnica, all'asportazione della capsula surrenale di sinistra, che nel coniglio si trova più caudalmente, a sinistra dell' aorta addominale, all' altezza del margine superiore della II vertebra lombare, al disopra della vena renale sinistra, alla cui parete aderisce fortemente. L'asportazione della capsula surrenale sinistra, data la sua posizione meno nascosta, era molto più facile di quella della capsula destra. Chiudevo infine la ferita della parete addominale suturando separatamente il piano muscolare e quello cutaneo.

Nel giorno precedente a quello in cui eseguivo l' operazione, determinavo il potere amilolitico della saliva e del siero di sangue. Tenevo quindi l'animale a digiuno, fino al momento dell'operazione. Qualche ora dopo che le capsule surrenali erano state asportate, ripetevo le determinazioni e tornavo a ripeterle nel giorno seguente, se l'animale era ancora vivo.

Come nelle mie ricerche precedenti, raccoglievo il sangue dall'animale, in quantità di 7-8 cm^3, trafiggendo, con un grosso ago a sezione triangolare, una vena dell'orecchio, dopo di avere iperemizzato questo, mediante frizioni con xilolo. Se non era possibile raccogliere il sangue dall'orecchio, come succedeva spesso dopo l'asportazione delle capsule surrenali, lo raccoglievo dall'arteria femorale.

Tabella I.

Esperimenti eseguiti su conigli operati con narcosi.

Numero e sesso del coniglio	Data 1928	Peso del corpo kg	Ore dopo l'operazione	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$	Ore di sopravvivenza dopo l'operazione
I ♂	21-VI	1,840		78	39	—
	22-VI	1,790	5 3/4	—	98	5 3/4
II ♀	24-VI	2,410	—	125	31	—
	25-VI	2,320	5	78	98	8 1/4
III ♂	26-VI	2,140	—	39	31	—
	27-VI	2,060	7 3/4	—	156	7 3/4
IV ♂	27-VI	1,980	—	62	39	—
	28-VI	1,920	5	98	125	9 1/2

Osservazioni. — Dopo l'asportazione delle capsule surrenali, il sangue si raccoglie dal cuore nei conigli I e III, appena morti, e dall'arteria femorale nei conigli II e IV.

Appena il sangue era coagulato, lo centrifugavo per ottenerne il siero.

Per ottenere dagli animali la saliva, instillavo, nel sacco congiuntivale di un occhio, 3 gocce di una soluzione di cloridrato di pilocarpina al 2 % e adoperavo per l'analisi sempre solo i primi 3 cm^3 di saliva, che defluivano dalla bocca.

Determinavo il potere amilolitico della saliva e del siero di sangue col metodo originale di Wohlgemuth (3), per i particolari del quale rimando alle mie ricerche precedenti. Ricorderò solo che, secondo tale metodo, il potere amilolitico della saliva e quello del siero sono contraddistinti rispettivamente col simbolo $D_1{}^h$ e $D_{21}{}^h$ e sono espressi dal numero di centimetri cubici di una soluzione di amido

solubile all'1 %, che sono trasformati in destrine da 1 cm³ di saliva o di siero, rispettivamente in 1 ora o in 24 ore, alla temperatura di 38° C.

II. - Risultati sperimentali.

Nelle tabelle I e II sono raccolti i risultati ottenuti dagli esperimenti.

Tabella II.

Esperimenti eseguiti su conigli operati senza narcosi.

Numero e sesso del coniglio	Data 1929	Peso del corpo kg	Ore dopo l'operazione	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$	Ore di sopravvivenza dopo l'operazione
V ♀	5-VII	1,800	-	98	39	—
	6-VII	1,710	5	78	78	—
	7-VII	1,670	23	125	200	23 1/4
VI ♀	8-VII	2,450	—	62	31	—
	9-VII	2,330	5	78	50	—
	10-VII	2,180	29	50	62	—
	11-VII	2,170	53	62	39	—
VII ♂	19-VII	1,780	—	50	39	—
	20-VII	1,720	6	—	98	6
VIII	22-VII	2,080	—	125	25	—
	23-VII	2,010	6	98	125	10 1/2
IX	23-VII	1,700	—	78	31	—
	24-VII	1,660	5	125	125	12 1/4

Osservazioni. — Dopo l'asportazione delle capsule surrenali, il sangue si raccoglie dal cuore nei conigli V e VII, appena morti. Il coniglio VI non muore in seguito all'asportazione delle capsule surrenali: il 15 luglio 1929 lo si sacrifica: all'autopsia si riscontrano resti non asportati di capsule surrenali, al di sopra delle legature, in entrambi i lati.

Dall'esame di queste tabelle risulta che il potere amilolitico della saliva non subisce praticamente alcuna modificazione in se-

guito all'asportazione delle capsule surrenali; infatti ora aumenta un po', ora diminuisce. Il potere amilolitico del siero invece presenta costantemente, dopo l'operazione, un aumento notevole e progressivo, che può giungere fino al 400 %. Questo aumento è tanto più notevole, in quanto che il potere amilolitico del siero nello stesso animale, in condizioni normali, è assolutamente costante, anche a distanza di tempo.

La velocità, con cui viene secreta la saliva, diminuisce sempre notevolmente, dopo l'asportazione delle capsule, e tanto più, quanto più vicina è la morte, così che spesso occorre aumentare la dose di pilocarpina. La latenza, che intercede fra il momento in cui la pilocarpina è instillata nel sacco congiuntivale e il momento in cui comincia a defluire la saliva dalla bocca, aumenta considerevolmente. Così, per esempio, nel coniglio V, mentre prima dell'operazione il tempo necessario per raccogliere i 3 cm^3 di saliva era di 5'50'', con una latenza di 4'10'', 5 ore dopo era aumentato a 19'20'', con una latenza di 8', e 22 ore dopo, pur con una dose doppia di pilocarpina, era giunto a 48', con una latenza di 31'.

Per quanto riguarda il comportamento degli animali dopo la asportazione delle capsule surrenali, ricorderò che gli animali, immediatamente dopo l'operazione, non presentavano nulla di anormale. Quelli operati senza narcosi, appena slegati dal tavolo d'operazione, riprendevano subito la loro posizione normale, camminavano e mangiavano, così che non si potevano distinguere dagli animali normali. Solo poco tempo prima della morte gli animali diventavano apatici, non si alimentavano più, presentavano una astenia ed una prostrazione, che andavano gradatamente aumentando, fino alla paralisi completa. Allora la temperatura del corpo si abbassava notevolmente, l'attività cardiaca andava scemando, si produceva dispnea e l'animale moriva, presentando molto spesso convulsioni.

La morte avveniva da 6 a 23 ore dopo l'operazione. Come risulta dal confronto dei dati contenuti nella tabella II con quelli raccolti nella tabella I, gli animali operati senza narcosi in generale sopravvivevano all'operazione un po' di più che quelli operati con narcosi; così il coniglio V sopravvisse perfino più di 23 ore, mentre, secondo Strehl e Weiss (4), che eseguirono parecchie asportazioni di capsule surrenali in diversi animali, danno come durata della sopravvivenza dei conigli, dopo l'asportazione in un sol tempo, da 8 a 14 ore.

III. - Discussione dei risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti dimostrano che solo il potere amilolitico del siero è influenzato dall'asportazione delle capsule surrenali, mentre quello della saliva non subisce alcuna modificazione, in seguito all'operazione.

Non vi può essere dubbio che l'aumento del potere amilolitico del siero, dopo l'asportazione delle capsule surrenali, sia da attribuirsi alla soppressione della funzione di questi organi e non all'operazione per sè stessa. Lo dimostra chiaramente il caso del coniglio VI, il quale non morì, in seguito all'asportazione delle capsule surrenali, perchè, come si potè constatare all'autopsia, l'asportazione non fu completa. Orbene, in questo animale il potere amilolitico del siero aumentò bensì un poco, subito dopo l'operazione, meno però che negli altri animali, in cui l'asportazione delle capsule fu completa, ma in seguito diminuì, riacquistando il valore normale. Il lieve aumento presentato dal potere amilolitico del siero, subito dopo l'operazione, è dovuto con tutta probabilità ad una insufficienza funzionale dei resti non asportati di capsule surrenali; il successivo ritorno alla norma fa pensare ad una rapida ipertrofia compensatoria di tali resti.

In ogni modo l'aumento del potere amilolitico del siero, che si verifica in seguito all'asportazione completa delle capsule surrenali, sta perfettamente in accordo colla diminuzione di tale potere, che io constatai in precedenti ricerche, dopo iniezioni sottocutanee di adrenalina.

Si tratta ora di stabilire per quale meccanismo le capsule surrenali e l'adrenalina possano modificare il potere amilolitico del siero. Questa questione coinvolge quella della provenienza dell'amilasi del sangue.

Dopo che Lépine e Barral (5) e Bial (6) dimostrarono che il potere amilolitico del sangue è dovuto ad un fermento esistente nel siero e non nei corpuscoli, si pensò che l'amilasi del sangue provenisse da quegli organi, che secernono continuamente grandi quantità di amilasi. Così Loeper e Ficai (7) sostennero che l'amilasi del sangue non sia altro che l'amilasi pancreatica, la quale, secreta nell'intestino, sia riassorbita e, per la vena porta, passi in circolo. Infatti questi autori trovarono che essa diminuisce notevolmente dopo la

legatura del dotto escretore del pancreas, mentre aumenta dopo la legatura dell'intestino alla fine dell'ileo.

Anche Schlesinger (8) sostiene che l'amilasi del sangue provenga soprattutto dal pancreas e ciò in base alle sue ricerche, le quali dimostrarono che il potere amilolitico del sangue aumenta dopo la legatura del dotto di Wirsung, per riassorbimento di amilasi dal pancreas, mentre diminuisce notevolmente dopo l'estirpazione del pancreas. L'aumento del potere amilolitico del sangue, dopo la legatura del dotto di Wirsung, era del resto già stato osservato da Lépine e Barral (9).

Questi risultati furono confermati da Wohlgemuth (10). Questo autore però non rinvenne, dopo l'asportazione del pancreas, una diminuzione dell'amilasi del sangue così considerevole, come quella trovata da Schlesinger; inoltre, in ricerche eseguite in collaborazione con Ehrmann (11), constatò che, in condizioni normali, il sangue venoso del pancreas non contiene più amilasi che quello di qualunque altro distretto vascolare. In base a tutte le sue ricerche, Wohlgemuth giunge alla conclusione che l'amilasi del sangue non proviene esclusivamente dal pancreas, ma anche da altri organi: anzitutto da quelli, il cui secreto contiene amilasi, come le ghiandole salivari, la mucosa intestinale e il fegato, e poi anche da quegli organi, che contengono glicogeno, come per esempio i muscoli, poichè è noto che, dove si trova glicogeno, esiste anche amilasi.

Diminuzione dell'amilasi del sangue, dopo asportazione del pancreas, trovarono anche Moeckel e Rost (12), Otten e Galloway (13), Markowitz e Hough (14) e Zummo (15). Karsner, Koeckert e Wahl (16) al contrario riscontrarono aumento.

Se, come sostiene Wohlgemuth, l'amilasi del sangue proviene da diversi organi, è da domandarsi come si comporta l'amilasi contenuta in questi organi, quando varia quella contenuta nel sangue, come succede appunto per azione dell'adrenalina. In proposito furono eseguite ricerche da alcuni autori.

Così Zegla (17), Loeper e Binet (18) e Cohen (19) trovarono che, in seguito ad iniezioni di adrenalina, aumenta la quantità di amilasi contenuta nel fegato.

Wohlgemuth e Benzur (20) invece non osservarono alcuna variazione della quantità di amilasi contenuta nel fegato e nei muscoli, ma rinvennero un aumento di quella contenuta nei reni.

Mentre Wohlgemuth (10, 20), Moeckel e Rost (12), Watanabe (21) e Karsner, Koeckert e Wahl (16) non riuscirono a dimo-

strare alcuna modificazione del potere amilolitico del sangue, in seguito ad iniezioni di adrenalina. Cohen (19) constatò, come nei miei esperimenti, una diminuzione. Quest'ultimo autore, collegando tale diminuzione coll' aumento, contemporaneamente da lui osservato, della quantità di amilasi contenuta nel fegato, crede che, dopo iniezioni di adrenalina, l'amilasi del sangue emigri nel fegato.

Se si tratta in realtà di una emigrazione dell'amilasi negli organi, è probabile che questi non siano rappresentati solo dal fegato, ma anche da altri, come il rene, che, come risulta dalle ricerche sopra citate di Wohlgemuth e Benzur, mostra appunto una maggiore quantità di amilasi dopo iniezioni di adrenalina. È forse non è escluso che fra tali organi siano compresi i muscoli, anche se in questi Wohlgemuth e Benzur non poterono dimostrare un aumento della quantità di amilasi. Questi autori infatti, nelle loro ricerche, paragonarono la quantità di amilasi contenuta nei muscoli, come pure nel fegato, nei reni e nel siero di conigli normali con quella contenuta negli stessi organi di altri conigli, ai quali fu iniettata adrenalina. Ora, date le variazioni individuali, talvolta molto notevoli (più del 100 %), esistenti nella quantità di amilasi contenuta nello stesso organo, una lieve variazione, in conseguenza dell'iniezione di adrenalina, può facilmente essere sfuggita alle ricerche di Wohlgemuth e Benzur.

Si può dunque pensare che la diminuzione della quantità di amilasi contenuta nel sangue, per azione dell'adrenalina, sia dovuta ad una emigrazione di essa in diversi organi (fegato, muscoli, reni, pancreas, ecc.), oppure ad un' inibizione esercitata dall' adrenalina al passaggio dell' amilasi dagli organi al sangue. All' accumulo di amilasi, che così si produce nei diversi organi, si può attribuire, almeno in parte, la maggiore scissione del glicogeno in essi contenuto, che, come è noto, si verifica per effetto dell'adrenalina e determina l'iperglicemia e la glicosuria. Dopo l'asportazione delle capsule surrenali, venendo a mancare l'adrenalina, si osservano i fenomeni opposti.

IV. - Conclusioni.

1. - In seguito all'asportazione delle capsule surrenali, nel coniglio, il potere amilolitico del siero di sangue aumenta progressivamente fino alla morte. Questo aumento sta perfettamente in ac-

cordo colla diminuzione di tale potere, constatata in precedenti ricerche, dopo iniezioni di adrenalina.

2. - Il potere amilolitico della saliva non subisce praticamente alcuna modificazione, dopo l'asportazione delle capsule surrenali.

3. - L'aumento del potere amilolitico del siero, in seguito alla asportazione delle capsule surrenali, è dovuto alla mancanza di adrenalina, che normalmente favorisce l'emigrazione di amilasi dal sangue in diversi organi, oppure inibisce il passaggio di essa dagli organi al sangue.

V. - BIBLIOGRAFIA.

(1) Gayda T. - Influenza dell'insulina sul potere amilolitico della saliva e del sangue. Questo *Archivio*, 1928, **12**, 197.

(2) Gaida T. - Influenza dell'iperglicemia sul potere amilolitico della saliva e del sangue. *Ibidem*, 1930, **14**.

(3) Wohlgemuth J. - Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. *Biochem. Zeitschr.* 1908, **9**, 1.

(4) Strehl H. und Weiss O. - Beiträge zur Physiologie der Nebenniere. *Pflüger's Arch.*, 1901, **86**, 107.

(5) Lépine R. et Barral - Sur les variations des pouvoirs glycolytique et saccharifiant du sang dans l'hyperglicémie asphyxique, dans le diabète phloridzique et dans le diabète de l'homme; et sur la localisation du ferment saccharifiant dans le sérum. *Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences*, 1891, **113**, 1014.

(6) Bial M. - Ueber die diastatische Wirkung des Blut- und Lymphserums. *Pflüger's Arch.*, 1892, **52**, 137.

(7) Loeper J. et Ficai J. - Contribution à l'étude de l'amylase. *Arch. de médec. expér. et d'anat. pathol.*, 1907, **19**, 722.

(8) Schlesinger . - Über den Ursprung des diastatischen Ferments im Blut und seine Beziehungen zu Diabetes mellitus. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908, **34**, 593.

(9) Lépine R. et Barral - Sur quelques variations du pouvoir glycolytique du sang et sur un nouveau mode de production expérimentale du diabète. *Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences*, 1891, **113**, 729

(10) Wohlgemuth J. - Untersuchungen über die Diastasen. III. Das Verhalten der Diastase im Blut. *Biochem. Zeitschr.*, 1909, **21**, 381.

(11) Ehrmann R. und Wohlgemuth J. - Untersuchungen über die Diastasen. IV. Zur Frage der inneren Sekretion des Pankreas. *Ibidem*, 1909, **21**, 423.

(12) Moeckel K. und Rost F. - Über den Ursprung und die Bedeutung des amylolytischen Blutferments. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1910, **67**, 433.

(13) Otten H. and Galloway T. C. - The relation of the pancreas to the blood diastases in the dog. *Americ. Journ. of Physiol.*, 1910, **24**, 347.

(14) Markowitz J. and Hough H. B. - A study of blood diastases in depancreatized dogs. *Ibidem*, 1926, **75**, 571.

(15) Zummo C. - Influenza del pancreas sull'amilasi serica. Nota I. *Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim.*, 1927, **2**, 333.

(16) Karsner H. T., Koeckert H. L. and Wahl S. A. - The diastatic activity of the blood in experimental hyperglycemia. *Journ. of exp. Med.*, 1921, **34**, 349.

(17) Zegla P. - Untersuchungen über die diastatische Ferment der Leber. *Biochem. Zeitschr.*, 1909, **16**, 111.

(18) Loeper M. et Binet E. - Recherches expérimentales sur le ferment amylolytique du foie. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.*, 1909, **66**, 635.

(19) Cohen S. J. - Blood diastases in relation to blood sugar. *Journ. of Pharmacol. a. exp. Therapeut.*, 1924, **23**, 151.

(20)) Wohlgemuth J. and Benzur J. - Untersuchungen über die Diastasen. VII. Über den Diastasegehalt verschiedener Organe des Kaninchens unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Biochem. Zeitschr.*, 1909, **21**, 460.

(21) Watanabe C. K. - Studies on animal diastases. II. The effect on the administration of various substances on the blood diastase of rabbits. *Americ. Journ. of Physiol.*, 1917, **45**, 30.

Dal **Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale**
Vol. V. fasc. 3, 1930
SEZIONE DI PAVIA. Seduta del 26 marzo 1930.

INFLUENZA DELLA TIROIDE SULL'EDEMA DA PERFUSIONE CON SOLUZIONI SALINE.

Dott. RODOLFO FERRARI, Aiuto.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal prof. T. Gayda).

Nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline, come dimostrò Gayda (1-3), concorrono non solo fenomeni fisici, chimici e fisico-chimici, la cui azione è subìta passivamente dai tessuti, ma anche fenomeni biologici di reazione dell'organismo alle nuove condizioni, in cui esso viene a trovarsi per effetto della circolazione artificiale. Gayda infatti osservò che tale edema è notevolmente maggiore se il sistema nervoso centrale del preparato è distrutto.

Ma, oltre al fattore nervoso, anche altri fattori biologici possono intervenire nella produzione dell'edema da perfusione con soluzioni saline. Fra essi possono avere particolare importanza quelli endocrini. Ed appunto per valutare tale importanza, ho intrapreso alcune ricerche collo scopo di stabilire l'influenza che la tiroide esercita nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline.

Eseguii la perfusione con liquido di Ringer-Locke a 33° C ossigenato su preparati d'orecchio e di zampa posteriore di 20 conigli, dei quali 7 erano stati stiroidati all'età di 30 giorni e presentavano evidenti i segni della deficienza tiroidea, 4 della stessa nidiata di questi erano tenuti come controllo, gli altri 9 servirono pure di controllo.

In 4 conigli normali al liquido di perfusione venne aggiunta una piccola quantità di tiroxina.

(1) Gayda T. - *Arch. per le Scienze Med.*, 1916, **39**, 389.
(2) Gayda T. - *Arch. di Fisiol.*, 1925, **23**, 405.
(3) Gayda T. - *Arch. di Scienze Biolog.*, 1927, **9**, 354.

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

(Direttore: Prof. T. Gayda)

DOTT. RODOLFO FERRARI

AIUTO

Sulla formazione dell'emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana

I. – Introduzione.

Il problema della sede normale della formazione dell'emoglobina nell'organismo non è ancora risolto. Molto importante a questo proposito è il reperto morfologico, che Villa (1-2) ha descritto recentemente nella serie dei megaloblasti dell'uomo. In preparati di sangue splenico d'anemia perniciosa, eseguiti con materiale venuto a contatto, nella siringa aspiratrice, con una soluzione ipotonica, Villa ha potuto riconoscere nel nucleo di alcuni megaloblasti, a trama cromatinica nucleare diradata, la presenza di una sostanza, colorata in rosa dal May-Grünwald-Giemsa, strettamente circoscritta al campo nucleare e contrastante con la basofilia intensa del protoplasma. Secondo le diverse fasi di maturazione nucleare dei megaloblasti, l'A. ha osservato una modificazione del comportamento della suddetta sostanza endonucleare acidofila, che, negli stadi più avanzati, invade centrifugamente il protoplasma, respingendo alla periferia, più che infiltrando, la parte basofila del protoplasma. Questa va limitandosi progressivamente a un tenue velo periferico, a un filamento o a pochi granuli, i quali, dopo avvenuta la espulsione del nucleo, picnotico e degenerato, restano superstiti nel megalocito come punteggiatura o granulazione basofila. Ciò è coerente con l'opinione che granulazioni e punteggiature basofile non siano di provenienza nucleare, ma protoplasmatica. Un complesso di fatti simile a quello descritto per i megaloblasti, Villa ha rilevato anche a carico degli eritroblasti, della serie cioè emoglobinica mieloide. Il pensiero dell'A., nella interpretazione dei

reperti descritti, è che si abbia identità tra sostanza acidofila endonucleare e quella plasmatica, e che, di conseguenza, la sintesi della emoglobina nell'organismo (pur con la riserva prudente che si debba ancora ricercare e stabilire ulteriormente, anche con altri mezzi, la identità assoluta oltrechè tintoriale delle dette sostanze) sia dovuta ad una attività nucleare. Villa afferma che è facile inoltre osservare come all'assenza di acidofilia nucleare in elementi a maturazione per altri caratteri progredita, corrisponda la assenza di acidofilia plasmatica, sicchè i megaloblasti, e si direbbe anche i megalociti corrispondenti, hanno un colore plasmatico grigio-sporco corrispondente ad una basofilia attenuata o alla policromatofilia comune. Questo fenomeno, riscontrato tanto nei megaloblasti quanto negli eritroblasti, secondo Villa, sembra rafforzare la importanza della origine nucleare della acidofilia, la quale parrebbe non essere più possibile nel plasma, quando nel nucleo, già in via di degenerazione, non siasi manifestata in precedenza.

Prima del Villa, pochissimi altri Autori hanno pensato alla influenza del nucleo degli eritroblasti nella genesi della emoglobina.

Giglio-Tos (3-5), per il primo, nel 1897, scrisse che « nel sangue della lampreda il succo nucleare trasuda dal nucleo degli eritroblasti nel protoplasma a formare « granuli emoglobinogeni », che trasformerebbero in emoglobina sostanze preesistenti nel plasma ». L'A. non potè, tuttavia, dare la dimostrazione diretta dell'origine nucleare dei granuli emoglobinogeni. Egli osservò solo che la maturazione degli eritroblasti avveniva con modificazioni nella costituzione morfologica del protoplasma e del nucleo e che il nucleo diminuiva notevolmente di volume, allorchè comparivano nel protoplasma i granuli emoglobinogeni.

Knoll (6), nel 1911, in preparati a striscio e a sezioni, colorati con diversi metodi, osservò che, nel nucleo di elementi eritroblastici, la sostanza interposta alle striature della maglia nucleare è acidofila come il protoplasma. La pubblicazione di Knoll passò allora inosservata ai ricercatori. Egli non diede, però, nè la dimostrazione che la sostanza acidofila dal nucleo potesse passare al protoplasma, nè che essa fosse emoglobina, o che potesse differenziarsi da altri costituenti nucleari acidofili (ossicromatina).

Particolare rilievo meritano i reperti di Prénant (7-8) nella serie eritroblastica del midollo osseo degli uccelli e del coniglio. Questo Autore, nel 1921, eseguì reazioni perossidasiche su strisci di midollo osseo femorale di uccelli adulti e di conigli giovani e osservò che, negli eritroblasti, tanto il nucleo, quanto fini granulazioni perinucleari, interpretate come granuli mitocondriali, assumono una

colorazione più o meno intensamente azzurra. Talora la colorazione bleu dei granuli perinucleari precede quella del nucleo. In base ai reperti ottenuti, PRÉNANT ritiene che, nella formazione della emoglobina, una funzione essenziale è esercitata tanto dal nucleo, quanto dall' apparato mitocondriale, ma che la emoglobina, prima che nel nucleo, compare nei mitocondri. L' ipotesi che le granulazioni osservate siano mitocondri non è, però, ancora dimostrata e contrasta colla mancata osservazione di essi negli eritrociti maturi, nei quali la persistenza dell' apparato mitocondriale è generalmente riconosciuta (MEVES, CIACCIO). D' altra parte gli esami eseguiti su sangue a fresco non hanno dimostrato all' Autore altri particolari decisivi, quali sono quelli osservati da VILLA nella diffusione della emoglobina dal nucleo al citoplasma nei megaloblasti e negli eritroblasti dell' uomo.

Secondo altri Autori la sede della formazione delle emoglobina sarebbe rappresentata esclusivamente dal protoplasma.

Per il PAPPENHEIM (9) l' origine della emoglobina è specificatamente paraplasmatica; per MEVES (10), SCHRIDDE (11), CIACCIO (12) essa ha origine da filamenti plasmatici o « plastosomi »; per SCHILLING (13) ha origine protoplasmatica perinucleare.

La dimostrazione, da parte dello SCHILLING, di un alone acidofilo perinucleare nelle cellule immature della serie emoglobinica, interpretato come fase primitiva della formazione della emoglobina, rappresenta, per la maggioranza degli AA., la prova decisiva nel dibattito per la risoluzione della questione.

In relazione col problema della sede della formazione della emoglobina riporto, nel presente lavoro, alcune osservazioni morfologiche e microchimiche sulla serie eritroblastica della rana, che si collegano, nel loro significato, col reperto morfologico descritto da VILLA nei megaloblasti e negli eritroblasti dell' uomo. Nelle ricerche, eseguite sul sangue di rana salata, ricchissimo di forme eritrocitarie immature, come ho dimostrato in una nota precedente (14), ho cercato di stabilire:

1) la esistenza o meno, anche per la serie eritroblastica della rana, di sostanza acidofila endonucleare e la sua identità tintoriale con quella protoplasmatica;

2) se esiste identità tra sostanza acidofila della serie rossa ed emoglobina;

3) se la comparsa di sostanza acidofila avvenga o no primitivamente nel nucleo degli eritroblasti di rana e quali relazioni intercorrano tra la comparsa di essa e i reperti morfologici osservati dagli AA.

II. - Tecnica.

Per rendere la rana salata, allo scopo di ottenere la comparsa in circolo di eritroblasti, seguivo la tecnica indicata da Gayda (15). Fissavo cioè l'animale, in posizione supina, su una tavoletta di sughero e, eseguito un taglio della pelle lungo la linea mediana ventrale, mettevo allo scoperto la vena addominale, senza penetrare nella cavità pleuroperitoneale. Con un ago ricurvo facevo poi passare un'ansa di filo di seta al disotto della vena e, praticata una piccola incisione nella parete della vena, introducevo nel lume di questa, verso il cuore, una sottile cannula di vetro, che fissavo nella vena stessa, annodando l'ansa del filo di seta. Congiungevo la cannula, mediante un tubo di gomma, ad un serbatoio contenente liquido di Ringer, diluito col 50 % di acqua per renderlo isotonico col sangue di rana, ed eseguivo la perfusione sotto una pressione di circa 20 cm di acqua. Il liquido penetrava nel moncone centrale della vena addominale e, dopo aver circolato attraverso il corpo della rana, usciva liberamente dal moncone periferico della vena stessa, che recidevo ampiamente per facilitare il deflusso del liquido. Continuavo la perfusione fino a che il liquido defluiva incoloro. Finita la perfusione, legavo i due monconi della vena addominale e suturavo separatamente i muscoli e la cute.

Eseguii le mie osservazioni su strisci di sangue di rana salata non colorati o colorati col May-Grünwald-Giemsa. Il sangue per gli strisci era ottenuto, a varia distanza di tempo dalla perfusione, tagliando uno o due dita della zampa della rana.

III. - Osservazioni morfologiche.

Negli strisci di sangue non colorati, la natura degli elementi della serie rossa è ben riconoscibile dalla loro forma e dalla struttura nucleare.

Gli elementi maturi appalesano una tinta giallo-verdastra uniforme del protoplasma e del nucleo. Tra le masse cromatiniche del del nucleo degli eritroblasti si osserva invece, a forte ingrandimento, una sostanza diffusa, di colorazione rossa, che manca, oltre che nel nucleo degli elementi maturi anche nel nucleo degli elementi della serie bianca.

Negli strisci di sangue colorati col May-Grünwald-Giemsa, la struttura compatta del nucleo degli eritrociti maturi impedisce di vedere se sostanza acidofila esista tra le sue maglie. Più chiara è la osservazione di una sostanza a tinta rosa tra le intaccature e screpolature delle masse cromatiniche del nucleo degli eritroblasti (vedi Tav. fig. 2-3).

Osservazioni ancor più dimostrative ho potuto fare su preparati di sangue eseguiti alcuni giorni dopo la perfusione della rana, allorchè, accanto all'imponente edema generale da perfusione, si verifica un rigonfiamento degli elementi eritrocitari, circolanti nel

plasma estremamente diluito; questi si presentano allora rigonfiati, con nucleo grande, a masse cromatiniche disposte a maglia ampia e diradata, con presenza costante di sostanza acidofila tra le masse cromatiniche dei nuclei eritroblastici (vedi Tav. fig. 10).

Un fatto di notevole interesse è che la sostanza acidofila non sempre è limitata al nucleo, ma presenta, talvolta, una diffusione, in forma di alone, dal nucleo verso il protoplasma (vedi fig. 1-2 e Tav. fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10).

Nei preparati di sangue ricchi di forme immature, si possono contemporaneamente seguire tutti gli stadi di evoluzione della so-

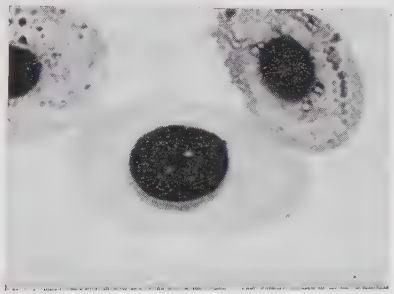


Fig. 1.

Microfotografia eseguita su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa. - Diffusione dell' emoglobina dal nucleo degli eritroblasti. Alone perinucleare intensamente acidofilo.

stanza acidofila e della maturazione morfologica delle cellule eritroblastiche, che contemporaneamente presentano un attivo processo di proliferazione per cariocinesi. Il fenomeno della diffusion della sostanza acidofila dal nucleo è particolarmente evidente nei preparati di sangue, eseguiti col metodo della grossa goccia.

Nel proeritroblasto non si riesce a dimostrare, in modo evidente, nel nucleo, la presenza di sostanza acidofila (vedi Tav. fig. 1). La sostanza acidofila non compare, entro al nucleo del proeritro blasto, a trama cromatinica assai fine, se non allorchè, accentuatasi la basofilia plasmatica e scomparsi i nucleoli, si inizia la graduale disposizione della trama cromatinica in masserelle tra loro separate come da intaccature e screpolature a fondo rosa. La diffusione della sostanza acidofila nucleare al protoplasma si inizia in forma di alone perinucleare, cosicchè gli stadi di queste forme più immature si possono compendiare in un particolare contrasto fra la tinta de-

bolmente rosea della sostanza acidofila endo e perinucleare e la intensa basofilia plasmatica per fenomeno paradosso (vedi Tav., fig. 2, 3).

Allorchè l'eritroblasto va assumendo la forma ovoide e allungata, l'alone perinucleare presenta una maggiore acidofilia e acquista una colorazione rosso-scarlatta (vedi Tav., fig. 5, 6, 7).

L'interesse degli ulteriori stadi di evoluzione è dato, dapprima, dalla comparsa della policromatofilia plasmatica e, successivamente della acidofilia generale del protoplasma e dalla scomparsa graduale della acidofilia del nucleo. All'esterno, cioè, dell'alone peri-

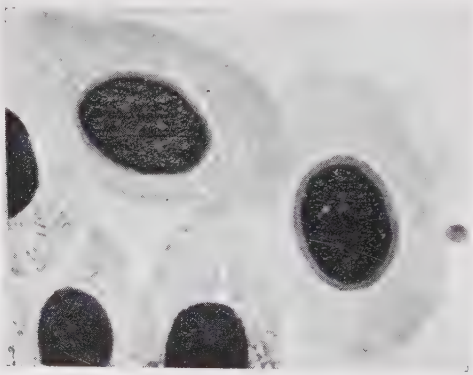


Fig. 2.

Microfotografia eseguita su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa. - Diffusione dell'emoglobina dal nucleo degli eritroblasti. Alone perinucleare intensamente acidofilo.

nucleare acidofilo, in cui la colorazione è omogenea, si ha una zona protoplasmatica policromatofila, nella quale si osserva una caratteristica colorazione mista, acidofila e basofila, non omogenea (vedi Tav., fig. 3, 4, 8, 10). La policromatofilia si diffonde, poi, a tutto il citoplasma, il quale in seguito diventa acidofilo, ma meno intensamente dell'alone perinucleare, che si mantiene omogeneo. Questo scompare in seguito; contemporaneamente si osservano modificazioni nella forma e nella struttura del nucleo, che diventa più piccolo e a masse cromatiniche compatte, mentre la acidofilia del protoplasma va progressivamente aumentando. Queste fasi precedono immediatamente la maturazione completa dell'eritrocito e non si appalesano negli elementi della serie bianca.

Quando la maturazione dell'eritrocito è completa, non esiste più nel nucleo sostanza acidofila (vedi Tav., fig. 8).

Un fatto che merita particolare rilievo è anche la osservazione, in qualche eritrocito, di granulazioni basofile, analoghe a quelle studiate da Ferrata (16) e da De Falco (17) negli eritrociti dell'uomo e della cavia e dalla Stolz (18-19) negli eritrociti dei vertebrati inferiori (girino di rana). Esse morfologicamente corrispondono alla sostanza basofila del protoplasma eritroblastico e, analogamente a quanto fu osservato da Villa nell'uomo, la loro formazione, nel sangue della rana, è dovuta, con tutta probabilità, al fatto che la sostanza acidofila, originatasi dal nucleo, diffondendo a poco a poco nel protoplasma, lascia intatte piccole isole di sostanza basofila, che costituiscono le granulazioni basofile stesse.

Ma ciò che più importa per la interpretazione dei fatti da me osservati è di stabilire la natura chimica della sostanza acidofila endonucleare e protoplasmatica.

In base a osservazioni morfologiche, tra loro comparate, Ehrlich (20), per il primo, aveva espresso l'opinione che l'acidofilia degli eritrociti fosse da riferire ad emoglobina. Infatti nella ipocitocromia, uniforme o no dei globuli rossi, la quantità di emoglobina risulta diminuita. In armonia con osservazioni successive di Naegeli (21) e Pappenheim (22) sulla ipocromia degli eritrociti, anche Ferrata (23), nella clorosi, ritiene che il particolare aspetto clorotico dei globuli rossi sia dovuto a scarsa emoglobina. Circa la ipercromia Ehrlich, Naegeli e Ferrata hanno rilevato questo reperto quasi sempre e quasi esclusivamente in quelle anemie, dove la quantità di emoglobina negli eritrociti è superiore alla norma.

Meyer e Heinecke (24) portarono un contributo alla questione, dimostrando che anche nel sangue embrionale, ricco di megalociti, i quali istologicamente si appalesano ipercromi, si ha un valore corpuscolare superiore alla norma. Ferrata (23), con ripetuti dosaggi sul sangue embrionale, ha confermato i risultati di Meyer e Heinecke, in armonia colla classica dottrina di Erhlich sul significato morfologico della acidofilia plasmatica eritrocitaria.

Si potrebbe dunque logicamente ritenere ben fondata l'ipotesi che la sostanza acidofila plasmatica e nucleare degli eritroblasti sia interpretabile come emoglobina, anche se Moravitz (25) e Pappenheim (22) credono che la ipercromia, indichi non la presenza di un eccesso di emoglobina, ma la sua trasformazione in metaemoglobina.

Ferrata nell'interessante problema, non ancora risolto, ritiene che solo nuove esaurienti ricerche chimiche possano portare un contributo decisivo.

IV. – Ricerche microchimiche.

Per accertare se la sostanza acidofila in questione sia veramente emoglobina, ho applicato ai preparati i metodi della reazione perossidasica della emoglobina, opportunamente modificati per la sua dimostrazione microchimica e citologica. All'uopo mi sono servito di due metodi. In entrambi ho seguito modalità di tecnica diverse, eseguendo le reazioni su sangue fresco e su sangue fissato.

Nel primo ho utilizzato la reazione che la emoglobina dà coll'α-naftolo e colla dimetil-para-fenilendiamina in presenza di acqua ossigenata. Ho applicato cioè il metodo di Ehrlich (20, 26) per la dimostrazione delle ossidasi nelle cellule del sangue, modificato per la dimostrazione delle perossidasi.

1) *Reazione su sangue fresco:*

a) Sopra un vetrino porta-oggetti si mette una goccia di una miscela in parti uguali di due soluzioni all'1% in alcool assoluto, l'una di α-naftolo e l'altra di dimetil-para-fenilendiamina, la si distende in uno strato sottile ed uniforme e la si lascia evaporare. Vi si distende, poi, una goccia di acqua ossigenata, diluita all'1 per 200, e sulla goccia si posa un vetrino copri-oggetti, su cui, subito prima, era stato strisciato il sangue in esame.

b) Sopra un vetrino porta-oggetti si versano una goccia di ciascuna delle due soluzioni alcooliche di α-naftolo e di dimetil-para-fenilendiamina ed una goccia di sangue, che subito vengono mescolate e ricoperte con un vetrino copri-oggetti. Dopo 3-5 minuti si aggiunge una goccia di H_2O_2, facendola aspirare per capillarità dai due vetrini.

2) *Reazione su sangue fissato:*

Sopra uno striscio di sangue fissato anche da lungo tempo, si versa una goccia di ciascuna delle soluzioni di α-naftolo e di dimetil-para-fenilendiamina, la si distende e si lascia a sè per 3-5 minuti. Si aggiunge qualche goccia di acqua ossigenata e, allorche il liquido, prima incoloro, ha acquistato una colorazione intensamente bleu, si lava in acqua distillata e si asciuga.

Il secondo metodo è basato sulla reazione che l'emoglobina dà colla benzidina in presenza di acqua ossigenata. In tale metodo si adopera una soluzione di benzidina in alcool assoluto all'1%. La tecnica è identica a quella seguita nel primo metodo. I preparati eseguiti colla benzidina si possono conservare a lungo.

La reazione perossidasica, tanto nella prova coll'α-naftolo e dimetil-para-fenilendiamina, quanto nella prova colla benzidina, sia su sangue fresco che su strisci di sangue, determina una evidente colorazione bluastra della sostanza che, negli elementi eritrocitari, normalmente è acidofila. È possibile anzi seguire al microscopio, con un obbiettivo a forte ingrandimento o colla immersione, tutte le fasi della reazione, e si può constatare che, nel sangue normale, la sostanza plasmatica giallastra degli eritrociti, per effetto dell'aggiunta di acqua ossigenata alla benzidina, o all'α-naftolo e

dimetil-para-fenilendiamina, assume a poco a poco una colorazione, dapprima verde chiaro, poi verde cupo fino a divenire bluastra.

Nel sangue della rana salata si rileva che, per effetto della reazione, mentre gli elementi maturi della seria rossa assumono una colorazione della stessa intensità tanto nel protoplasma quanto nel nucleo, negli elementi immaturi la colorazione è più intensa entro al nucleo che nel protoplasma.

Come controllo ho eseguito, sugli elementi della seria rossa, la reazione delle ossidasi, mediante gli stessi reattivi, ma senza acqua ossigenata, ed ho constatato, ciò che era da aspettarsi, che la sostanza acidofila degli elementi della serie rossa di rana, normale e salata, dà reazione negativa.

I preparati, su cui si è eseguita la reazione perossidasica, se colorati successivamente col metodo May-Grünwald-Giemsa, dimostrano che la sostanza, che ha dato la reazione e che normalmente è acidofila, non assume più la colorazione rossa e mantiene inalterata quella bluastra.

La reazione perossidasica eseguita sugli elementi ipercromi è pure positiva.

V. – Interpretazione e discussione dei risultati sperimentali.

Sintetizzando le osservazioni morfologiche si può affermare:

1) Nella serie eritroblastica della rana salata esiste una sostanza acidofila endonucleare che si comporta, di fronte ai coloranti, come la sostanza acidofila protoplasmatica degli elementi maturi.

2) La sostanza acidofila compare prima nel nucleo e si diffonde successivamente al protoplasma.

3) Nella diffusione della sostanza acidofila dal nucleo al citoplasma si possono stabilire i fatti seguenti:

a) la diffusione si inizia in forma di alone perinucleare acidofilo, la cui formazione è secondaria a quella della sostanza acidofila nel nucleo;

b) alla diffusione si accompagna in seguito il fenomeno della policromatofilia del protoplasma;

c) la successiva maturazione eritroblastica avviene con fenomeni morfologici ben distinti del nucleo e dell'alone più intensamente acidofilo perinucleare;

d) la formazione delle granulazioni basofile di alcuni eritroblasti è dovuta, con tutta probabilità, alla incompleta sostituzione del protoplasma basofilo colla sostanza acidofila, originata dal nucleo.

Tali fatti non si verificano negli elementi della serie bianca e

sono caratteristici degli elementi della serie rossa e particolarmente delle forme immature di essa.

4) La formazione endonucleare di sostanza acidofila e la sua diffusione al protoplasma sono accompagnate da attivi processi di differenziazione, maturazione e proliferazione, per cariocinesi, delle cellule eritroblastiche.

In base alle osservazioni microchimiche è lecito affermare:

1) La sostanza acidofila della serie eritrocitaria è, con tutta probabilità, emoglobina. La reazione perossidasica è intensamente positiva anche negli elementi ipercromi e dimostra che la sostanza acidofila in essi contenuta è pure emoglobina.

2) L'emoglobina, negli elementi immaturi, si trova in maggior quantità nel nucleo che nel protoplasma e nel nucleo prima che nel protoplasma. Questo fatto fa pensare che il nucleo abbia una grande importanza nella sintesi della emoglobina.

Nella interpretazione del reperto citologico nuovo, escludo che esso rappresenti un fatto artificiale della colorazione, sia perchè non si osserva nel nucleo degli elementi della serie bianca e nelle forme mature della serie rossa, sia per la constatazione dei fenomeni evolutivi successivi, ma, sopratutto, per la reazione perossidasica, che la sostanza acidofila dà costantemente.

Tutti i fatti suddetti dimostrano che le prime fasi della formazione della emoglobina si svolgono nel nucleo, e che l'ipotesi di Pappenheim (9), Schridde (11), Ciaccio (12), Meves (10) Giglio-Tos (3) della origine primitiva protoplasmatica della emoglobina è da respingere. Per quale meccanismo il nucleo intervenga nella formazione della emoglobina per ora non è possibile dire.

In particolare rilievo va messo il fatto che l'alone acidofilo perinucleare, che Schilling (13) sostenne essere la fase primitiva della formazione della emoglobina nell'eritroblasto, non rappresenta che la prima fase della diffusione della sostanza acidofila dal nucleo al protoplasma. Ciò è confermato anche dal fatto che tale alone perinucleare si continua ininterrottamente colla sostanza acidofila endonucleare.

Gli ulteriori stadi della maturazione della cellula eritroblastica sono caratterizzati essenzialmente dalla comparsa della policromatofilia e della successiva acidofilia generale del protoplasma. La policromatofilia si inizia subito all'esterno della zona perinucleare omogeneamente acidofila, ed è dovuta al fatto che l'emoglobina, proveniente dal nucleo, si diffonde al resto del protoplasma basofilo in modo non omogeneo.

Questo particolare aspetto della cellula eritroblastica si può spiegare pensando che la parte del protoplasma, in cui si forma l'alone acidofilo, sia costituita da un colloide unico e che invece la parte, in cui si verifica il fenomeno della policromatofilia, sia formata da più colloidi, non mescolabili fra di loro e costituenti un sistema polifasico. Perciò l'emoglobina, mentre si diffonde in modo uniforme nella parte del protoplasma, che circonda immediatamente il nucleo, si distribuisce in modo non omogeneo nella parte circostante e, solo più tardi, invade interamente il protoplasma.

La ipotesi degli AA., che sostennero la origine esclusivamente protoplasmatica della policromatofilia, [Pappeheim (27), Türk (28), Boellke (29), Biondi (30), Sabrazès (31), Cesaris-Demel (32-33), Ferrata (34), Askanazy (35)], deve essere quindi modificata in base ai reperti da me osservati, che ne dimostrano la origine dalla sostanza acidofila proveniente dal nucleo.

La ipotesi della origine esclusivamente plasmatica delle granulazioni basofile degli eritrociti, sostenuta da Ferrata e da De Falco (17), per il sangue dell'uomo e della cavia, è invece confermata, per il sangue della rana, dalle mie osservazioni, che dimostrano che tali granulazioni sono dovute ad una incompleta sostituzione del protoplasma basofilo colla sostanza acidofila nucleare.

Un altro fatto, non privo di interesse, risulta dalle mie osservazioni ed è che l'esame citologico del sangue può rivelare la formazione della emoglobina nell'organismo della rana salata, quando essa non può essere dimostrata dai comuni metodi di determinazione colorimetrica dell'emoglobina stessa.

La reazione perossidasica, intensamente positiva negli elementi ipercromi, dimostra che anche la sostanza acidofila, in essi contenuta, è emoglobina, il che è in armonia con la ipotesi, già ricordata, di Ehrlich che la ipercromia sia dovuta a maggior quantità di emoglobina contenuta negli elementi ipercromi, e colle classiche ricerche di Naegeli, Ferrata e Meyer e Heinecke sul sangue embrionale e sul sangue in casi di anemia perniciosa nell'uomo.

Dal complesso delle mie osservazioni risulta infine che tanto la formazione della emoglobina entro al nucleo, quanto la sua successiva diffusione al protoplasma, vanno di pari passo con una attiva proliferazione delle cellule eritroblastiche. Questa constatazione dimostra che il nucleo può intervenire contemporaneamente nella riproduzione della cellula e nella sua attività formativa.

CONCLUSIONI

1) Nella serie eritroblastica della rana salata si può dimostrare, coi comuni metodi di colorazione del sangue, la esistenza di una sostanza acidofila endonucleare, che si comporta, di fronte ai coloranti, come la sostanza acidofila protoplasmatica delle cellule eritrocitarie mature. Tale sostanza acidofila compare prima nel nucleo e si diffonde successivamente al citoplasma.

2) La sostanza acidofila endonucleare e protoplasmatica delle cellule della serie rossa dà tanto coll' α-naftolo e colla para-fenilendiamina, quanto colla benzidina, in presenza di acqua ossigenata, reazione perossidasica positiva. È lecito perciò affermare che la sostanza acidofila è, con tutta probabilità, emoglobina. Questa, negli elementi immaturi, si trova in maggior quantità nel nucleo che nel protoplasma e nel nucleo prima che nel protoplasma. Questo fatto fa pensare che il nucleo abbia una grande importanza nella sintesi della emoglobina.

3) Nella diffusione della emoglobina dal nucleo al citoplasma si possono stabilire i fatti recenti:

a) la diffusione si inizia in forma di alone perinucleare acidofilo, la cui formazione è secondaria a quella della sostanza acidofila nel nucleo;

b) alla diffusione si accompagna in seguito il fenomeno della policromatofilia del protoplasma;

c) la successiva maturazione eritroblastica avviene con fenomeni morfologici ben distinti del nucleo e dell' alone più intensamente acidofilo perinucleare;

d) la formazione delle granulazioni basofile degli eritroblasti è dovuta, con tutta probabilità, alla incompleta sostituzione del protoplasma basofilo colla emoglobina proveniente dal nucleo.

4) Tutti i fatti osservati non si verificano negli elementi della serie bianca e sono caratteristici degli elementi della serie rossa e particolarmente delle forme immature di essa.

5) L' esame citologico del sangue può rilevare la formazione della emoglobina, nell' organismo della rana salata, quando essa non può essere dimostrata dai comuni metodi di determinazione colorimetrica della emoglobina stessa.

6) La reazione perossidasica della emoglobina è intensamente positiva negli elementi ipercromi. Questo fatto conferma che la ipercromia è dovuta alla maggior quantità di emoglobina contenuta negli elementi ipercromi.

7) La formazione della emoglobina entro al nucleo, e la successiva diffusione al protoplasma, sono accompagnate da una attiva proliferazione delle cellule eritroblastiche. Questa constatazione dimostra che il nucleo può intervenire contemporaneamente nella riproduzione della cellula e nella sua attività formativa.

Bibliografia.

1. Villa L. — Descrizione di un reperto morfologico, riflettente un fenomeno biochimico nei megaloblasti. - Haematologica, X, 327, 1929.
2. Villa L. — Ulteriori reperti sul fenomeno della acidofilia nucleare primitiva nella serie emoglobinica; il probabile significato di esso. - Haematologica, X, 355, 1929.
3. Giglio Tos E. — Sur les cellules du sang de la Lamproie. - Arch. Ital. de Biol., XXVI, 93, 1897.
4. Giglio Tos E. — La structure et l'evolution des corpuscules rouges du sang chez les vertébrés. - Arch. Ital. de Biol., XVII, 110, 1898.
5. Giglio Tos E. — L'hématopoése chez la Lamproie. - Arch. Ital. de Biol., XXVII, 459, 1898.
6. Knoll W. — Deutsch. Arch. f. Klin. Medizin., 102, 1911.
7. Prénant M. — Sur l'apparition de l'hémoglobine dans les hematies des vertébrés. - Compt. Rend. de la Soc. de Biol., LXXXV, 912, 1921.
8. Prénant M. — Études histologiques sur les peroxidases animales. - Arch. de morph. gen. et exper., 21, 1924.
9. Pappenheim — Folia Haematologica, Arch., 15, 1913.
10. Meves — Arch. f. mikr. Anat., LVII, 1911.
11. Schridde — Anat. Anzeiger, 42, 1912.
12. Ciaccio — Folia Haemat., Arch., 15, 1913.
13. Schilling T. — Virchow's Arch., 234, 1921.
14. Ferrari R. — Ricerche ematologiche sulla rana salata. - Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sper., IV, 843, 1929.
15. Gayda T. — La produzione di calore nella rana in diverse condizioni sperimentali. Nota 2.ª Ricerche sulla rana salata. - Arch. di Scienze Biol., II, 333, 1921.
16. Ferrata A. — Ueber die klinische uud morphologische Bedeutung der vitalfärbaren Substanz und die basophile Punctierung der Erythrozyten. - Folia Haematol. Arch., XI, 1910.
17. De Falco — Sulla genesi e sul significato morfologico e clinico delle granulazioni basofile degli eritrociti. - Folia medica, 1915.
18. Stolz R. — Ematopoiesi normale e sperimentale nei pesci teleostei. - Haematologica, IX, 419, 1928.
19. Stolz R. — Le granulazioni basofile degli eritrociti nei vertebrati inferiori. - Atti della Soc. Ital. di Scienze Naturali, LXVII, 93, 1928.
20 Ehrlich P. — Farbeanalitische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes, Berlin, 1891.
21. Naegeli — Blutkrankeiten und Blutdiagnostik, Leipzig, 1912.
22. Pappenheim — Grundriss der hämatologischen Diagnostik und praktischen Blutuntersuchungen, Leipzig, 1911.

23. Ferrata A. — Le Emopatie. - I, Milano, 1918.
24. Meyer E. und Heinecke — Ueber den Färbeindex der roten Blutkörperken. - Münch. med. Wochenschr., 17, 1906.
25. Morawitz — Ueber atypische schwere Anaemie. - Deutsch. Arch. für klin. Med., 88, 1907.
26. Ehrlich P. — Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. - Berlin, 1885.
27. Pappenheim — Bemerkungen zur Kenntnis und Bedeutung der basophilen Punktierung der roten Blutkörperchen. - Virchow's Arch., 176, 1904.
28. Türk — Klinische Haematologie, I, Wien, 1904.
29. Boelltke O. — Ueber die Klinische Bedeutung der wichtigsten morphologischen Veränderungen an den roten Blutkörperchen. - Virchow's Arch., 176, 1904.
30. Biondi — Alterazioni ematiche in alcuni avvelenamenti; osservazioni ulteriori sulla granulobasia e sulla policromatofilia degli eritrociti. - Boll. Soc. Cultori Scienze Mediche, Cagliari, 1907.
31. Sabrazès — Polichromatophilie et hématies à granulations basophiles dans le sang des sujets ayant du plomb dans l'organisme, à la suite de coup de feu. - Gaz. hebd. des Soc. Med. de Bordeaux, 14, 1907.
32. Cesaris Demel — Sulla sostanza cromatofila endoglobulare in alcuni eritrociti. - Atti R. Acc. Scienze di Torino, 36, 1901.
33. Cesaris Demel — Sulla varia tingibilità e sulla differenziazione della sostanza cromatica contenuta in alcuni eritrociti. - Rend. della R. Acc. dei Lincei, V, 6, 1906.
34. Ferrata e Viglioli — Rapporti tra sostanza granulofilamentosa e policromatofilia degli eritrociti ed eritroblasti. - Folia Clin. chim. et microscop., III, 1911.
35. Askanazy — Ueber die Körnung der roten Blutkörperchen bei anämischer Zustanden. - Zeitschr. f. Klin. Med., 64, 1907.

Résumé.

L'A. sur la base de recherches morphologiques, a constaté que dans la série érythroblastique de la grenouille il existe une substance acidophile endonucléaire, qui se comporte vis-à-vis des matières colorantes comme la substance acidophile protoplasmatique des cellules érythrocytaires non mûres. Cette substance apparait d'abord dans le noyau et se diffond ensuite au protoplasme. Par des recherches microchimiques l'A. a démontré que la substance acidophile est selon toute probabilité de l'hémoglobine et que dans le éléments non mûrs elle se trouve en quantité plus grande dans le noyau que dans le protoplasme, et en outre d'une manière plus précoce dans le noyau. Ceci fait penser à l'A. que le noyau ait une grande importance dans la synthèse de l'hémoglobine. La diffusion de l'hémoglobine du noyau au protoplasme commence sous forme d'un halo périnucléaire, donne lieu ensuite au phénomène de la polychromatophilie du protoplasme et est complète lorsque tout le protoplasme est devenu uniformément acidophile.

L'A. affirme que la formation des granulations basophiles est due, selon toute probabilité, à la substitution incomplète du protoplasme basophile par l'hémoglobine provenant du noyau.

Tous les faits observés par l'A. n'ont pas lieu chez les éléments de la série blanche et sont caractéristiques des éléments de la série rouge, surtout des éléments non mûrs.

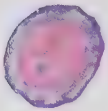
Spiegazione della Tavola.

Fig. 1. — Pro eritroblasto del sangue della rana.

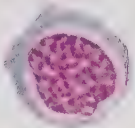
Fig. 3-4. — Eritroblasto basofilo del sangue della rana. Comparsa della emoglobina nel nucleo e fase iniziale della sua diffusione al protoplasma.

Fig. 4-9. — Fasi della diffusione della emoglobina dal nucleo degli eritroblasti della rana. Alone perinucleare acidofilo, policromatofilia e acidofilia del protoplasma, scomparsa della emoglobina endonucleare.

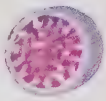
Fig. 10. — Striscio di sangue di rana salata, colorata col May-Grünwald-Giemsa. Campo non combinato. Comparsa della emoglobina nel nucleo degli eritroblasti e fasi della sua diffusione al protoplasma.



1

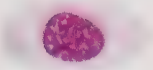


2



3

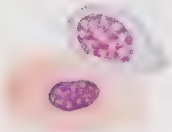
4



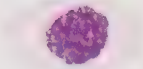
5

6

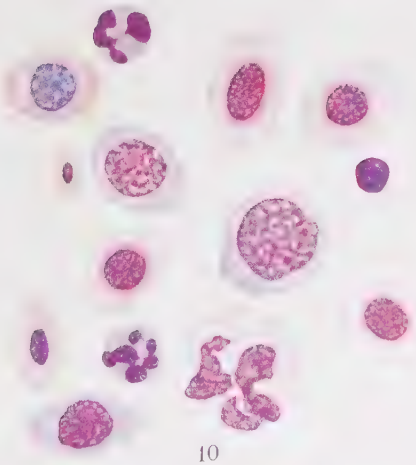
7



8



9



10

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXIX° — Fasc. 2°

INFLUENZA DELLA TIROIDE SULL' EDEMA DA PERFUSIONE CON SOLUZIONI SALINE.

Dott. Rodolfo Ferrari
Aiuto.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

Nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline, come dimostrò Gayda (1-3), concorrono non solo fenomeni fisici, chimici e fisico-chimici, la cui azione è subita passivamente dai tessuti, ma anche fenomeni biologici di reazione dell'organismo alle nuove condizioni, in cui esso viene a trovarsi per effetto della circolazione artificiale. Molto importante a questo proposito è l'azione esercitata dal sistema nervoso centrale. Gayda infatti osservò che l'edema, che si produce in un preparato di rana costituito dalla testa, dalle estremità anteriori e dal cuore, quando venga perfuso con liquido di Ringer-Locke ossigenato e isotonico col sangue di rana, è notevolmente maggiore se il sistema nervoso centrale del preparato è distrutto. Questo fatto si deve attribuire sia alla mancanza delle contrazioni muscolari spontanee, le quali, oltre a favorire la circolazione, possono scacciare dai tessuti parte del liquido che produce l'edema, sia alla vasodilatazione consecutiva alla distruzione dei centri vasomotori.

Ma, oltre al fattore nervoso, anche altri fattori biologici possono intervenire nella produzione dell'edema da perfusione con soluzioni saline. Fra essi possono avere particolare importanza quelli endocrini. Ed appunto per valutare tale importanza, ho intrapreso, per consiglio del Prof. Gayda, alcune ricerche collo scopo di stabilire l'influenza che la tiroide esercita nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline. Tali ricerche sono giustificate dal con-

II. — Tecnica.

Eseguii la perfusione con liquido di Ringer-Locke ossigenato su preparati d'orecchio e di zampa posteriore di 20 conigli, dei quali 7 erano stati stiroidati e presentavano evidenti i segni della deficienza tiroidea, 4, della stessa nidiata di questi, erano tenuti come controllo, gli altri 9 servirono pure di controllo.

In 4 conigli normali al liquido di perfusione venne aggiunta una piccola quantità di tiroxina; in questi, mentre il preparato d'orecchio sinistro era perfuso con liquido di Ringer-Locke contenente 2,2 mg di tiroxina «Roche» per litro, quello dell'orecchio destro era perfuso, a scopo di controllo, con liquido di Ringer-Locke semplice.

Tanto negli animali stiroidati, quanto in alcuni di controllo determinai anche l'indice di Aldrich e Mc Clure per lo studio della idrofilia dei tessuti, secondo la tecnica indicata da Bernardbeig e Sendrail (16) per il coniglio; determinai cioè il tempo di riassorbimento di una bolla intradermica, provocata dall'iniezione di 0,5 cm^3 di liquido di Ringer nel padiglione dell'orecchio.

Eseguii la tiroidectomia, a cui si associava necessariamente la asportazione delle due paratiroidi interne, sui conigli all'età di 30 giorni, perchè solo negli animali giovani essa è seguita da effetti evidenti. L'operazione fu sempre fatta senza ricorrere a narcosi.

Per eseguire il preparato da sottoporsi alla perfusione, amputavo il padiglione dell'orecchio alla sua base, oppure disarticolavo l'anca, dopo di avere tagliato i vasi tra due legature. Asciugavo quindi con cotone il preparato dal sangue, lo pesavo immediatamente in un recipiente di vetro tarato, isolavo un tratto di arteria auricolare o femorale alla base del preparato, vi innestavo la cannula e iniziavo subito la perfusione. Suturavo poi la ferita prodotta nell'animale.

L'apparecchio usato per la perfusione era costituito essenzialmente da un tubo di vetro verticale del diametro di 23 mm e lungo 25 cm, in cui il liquido di Ringer-Locke, proveniente da una bottiglia di Mariotte e da questa mantenuto a livello costante, veniva ossigenato. Il tubo si continuava inferiormente con un serpentino, che attraversava un bagno ad acqua alla temperatura costante di 33° C. e si congiungeva inferiormente, mediante un tubo di gomma, colla cannula innestata nell'arteria del preparato. Durante la perfusione il preparato era tenuto in un termostato ad aria alla tempe-

ratura costante di 33° C. La colonna di liquido che gravitava sul preparato era sempre di 50 cm. Il liquido che defluiva da esso veniva raccolto per mezzo di un imbuto in una boccia di peso noto.

La perfusione durava sempre un'ora esatta. Quando essa era terminata, si asciugava accuratamente il preparato con carta da filtro, senza esercitarvi pressione colla mano, per un quarto d'ora esatto a partire dal momento in cui era terminata la perfusione. Quindi lo si pesava nello stesso recipiente adoperato in precedenza. Anche il liquido defluito dal preparato durante la perfusione veniva pesato.

III. — Risultati sperimentali.

Per effetto della tiroidectomia, 40-70 giorni dopo l'intervento, si resero evidenti nei conigli da me operati le classiche manifestazioni della deficienza tiroidea: cioè arresto di sviluppo del corpo, disturbi trofici della pelle e del sottocutaneo e disturbi della termogenesi.

In questo periodo di tempo eseguii gli esperimenti di perfusione dei preparati d'orecchio e di zampa e determinai l'indice di Aldrich e Mc Clure tanto negli animali tiroidectomizzati, quanto in quelli di controllo.

I risultati sono riportati nelle tabelle I-V.

Dai dati contenuti nelle tabelle I e II si rileva che negli animali normali l'aumento, che subisce il peso del preparato perfuso con liquido di Ringer-Locke, per effetto dell'edema, è praticamente costante. Tale aumento oscilla infatti tra il 40,2 % e il 52,6 % per i preparati d'orecchio e tra il 25,7 % e il 39 % per i preparati di zampa ed è uguale in media al 45,78 % per il preparato di orecchio e al 33,35 % per il preparato di zampa.

L'ispezione della tabella III dimostra poi che negli animali stiroidati, in conseguenza dell'edema da perfusione, l'aumento del peso del preparato d'orecchio è in media del 69 % e quello del preparato di zampa del 65,5 %.

Negli animali stiroidati l'intensità dell'edema da perfusione è dunque notevolmente maggiore che in quelli normali.

Questo fatto dimostra che la tiroide non è senza influenza sulla produzione dell'edema da perfusione con soluzioni saline.

Ciò è confermato dai risultati degli esperimenti eseguiti su preparati d'orecchio, perfusi con liquido di Ringer-Locke contenente tiroxina, e raccolti nella tabella IV, che dimostrano che l'aumento del

TABELLA I.

Esperimenti di perfusione eseguiti su preparati d'orecchio di conigli adulti normali.

Numero, sesso e peso dell'animale	Data 1929	Lato del preparato	Peso del preparato				Volume del liquido che ha perfuso il preparato
			Prima della perfusione	Dopo la perfusione	Aumento	Aumento	
			g	g	g	%	cm³
XII femmina 2400 g	8-III	*D*	10,72	16,24	5,52	51,1	424
		S	11,82	17,31	5,49	46,4	339
XIII maschio 2000 g	10-III	*D*	12,29	17,77	5,48	44,6	236
XIV femmina 2100 g	21-III	*S*	9,23	13,29	4,06	43,8	560
XV maschio 2100 g	24-III	*D*	8,76	13,02	4,26	48,6	643
		S	8,61	12,44	3,83	44,2	152
XVI maschio 1900 g	29-III	*D*	8,85	13,51	4,66	52,6	708
		S	8,91	13,57	4,66	52,3	519

TABELLA II.

Esperimenti di perfusione eseguiti su preparati d'orecchio e di zampa posteriore di conigli normali.

Numero, sesso e peso dell'animale	Data 1929	Lato del preparato	Peso del preparato: Prima della perfusione (g)	Peso del preparato: Dopo la perfusione (g)	Peso del preparato: Aumento (g)	Peso del preparato: Aumento (%)	Volume del liquido che ha perfuso il preparato (cm³)
VIII femmina 1320 g	13-IV	orecchio D	6,27	9,12	2,75	43,8	202
		orecchio S	6,52	9,44	2,92	46,3	217
IX femmina 1500 g	17-IV	orecchio D	5,46	7,68	2,22	40,6	330
		orecchio S	5,48	7,94	2,46	44,8	620
		zampa S	116,5	146,5	30,0	25,7	632
		zampa D	93,0	120,0	27,0	29,0	598
X femmina 1550 g	19-IV	orecchio D	8,62	12,55	3,93	45,6	281
		orecchio S	9,08	12,80	3,82	40,2	375
		zampa D	124,0	170,0	46,0	37,0	624
		zampa S	132,0	188,0	45,0	34,0	960
XI femmina 600 g	23-IV	orecchio D	10,14	14,85	4,71	46,4	340
		orecchio S	10,66	15,09	4,43	41,2	550
		zampa D	151,3	205,5	53,2	35,1	1040
		zampa S	148,5	196,0	58,0	39,0	750

TABELLA III.

Esperimenti di perfusione eseguiti su preparati d'orecchio e di zampa posteriore di conigli stiroidati, della stessa nidiata di quelli della Tab. II.

Numero, sesso e peso dell'animale	Data 1929	Giorno dalla tiroidectomia	Lato del preparato	Peso del preparato: Prima della perfusione (g)	Peso del preparato: Dopo la perfusione (g)	Peso del preparato: Aumento (g)	Peso del preparato: Aumento (%)	Volume del liquido che ha perfuso il preparato (cm³)
I femmina 1200 g	14-IV	49	orecchio D	6,02	10,82	4,80	79,7	228
			orecchio S	6,00	10,31	4,51	75,1	233
II femmina 1180 g	15-IV	50	orecchio D	6,91	11,33	4,42	63,9	199
			orecchio S	7,45	11,67	4,22	57,9	193
III femmina 890 g	16-IV	50	orecchio D	5,09	8,34	3,25	63,8	225
			orecchio S	5,14	8,65	3,51	68,2	210
IV femmina 1000 g	5-IV	39	orecchio D	6,28	11,59	5,31	84,5	637
			orecchio S	6,71	12,19	5,48	81,6	595
V femmina 1320 g	18-IV	50	orecchio D	5,08	8,28	3,10	60,6	450
			orecchio S	4,53	7,60	3,07	67,7	224
			zampa D	122,5	161,3	38,8	31,6	690
			zampa S	97,8	218,9	121,1	123,7	635
VI femmina 1300 g	12 V	74	orecchio D	4,64	7,85	3,21	69,1	510
			orecchio S	6,62	11,28	4,66	70,3	400
			zampa D	71,1	109,5	38,4	54,0	1120
VII femmina 1400 g	15-V	74	orecchio D	9,07	14,66	5,59	60,9	416
			orecchio S	9,22	15,06	5,84	63,3	630
			zampa D	74,5	119,8	45,3	60,8	1185
			zampa S	103	162,5	59,5	57,7	965

OSSERVAZIONI. — *L'autopsia del coniglio IV rivelò presenza di focolai di bronco-polmonite nel polmone destro.*

TABELLA IV.

Esperimenti di perfusione eseguiti su preparati d'orecchio di conigli normali con liquido di *Ringer-Locke* semplice (orecchio destro) e con liquido di *Ringer-Locke* contenente 2,2 mg di tiroxina per litro (orecchio sin.)

Numero, sesso e peso dell'animale	Data 1929	Lato del preparato	Peso del preparato: Prima della perfusione g	Peso del preparato: Dopo la perfusione g	Aumento g	Aumento %	Volume del liquido che ha perfuso il preparato cm^3
XVII maschio 2500 g	13-V	*D*	10,06	22,34	12,28	122,1	720
		S	11,09	13,53	2,44	21,6	174
XVIII maschio 2200 g	14-V	*D*	9,00	14,34	5,34	59,3	372
		S	8,93	12,64	3,71	41,5	297
XIX maschio 2000 g	16-V	*D*	8,91	13,57	4,66	52,3	519
		S	9,14	13,52	4,38	47,9	392
XX maschio 2650 g	18-V	*D*	8,85	13,51	4,46	52,6	708
		S	8,61	12,27	3,66	42,5	561

TABELLA V.

Indice di *Aldrich* e *Mc Clure* in conigli normali e in conigli stiroidati.

Conigli normali			Conigli stiroidati			
Numero sesso e peso dell'animale	Data 1929	Tempo di riassorbimento in minuti primi	Numero sesso e peso dell'animale	Data 1929	Giorno dalla tiroidectomia	Tempo di riassorbimento in minuti primi
VIII femmina 1180 g	27 III	60	I femmina 750 g	27-III	30	24
IX femmina 1250 g	27-III	75	II femmina 900 g	27-III	30	35
X femmina 1270 g	28-III	66	III femmina 980 g	28-III	28	30
XI femmina 1320 g	28-III	58	IV femmina 820 g	28-III	28	44
			V femmina 990 g	28 III	26	28
			VI femmina 880 g	28-IV	26	39
			VII femmina 1050 g	3-IV	31	30

peso del preparato, in conseguenza dell'edema da perfusione, è minore quando la perfusione è eseguita con liquido di Ringer-Locke contenente tiroxina che non quando essa è praticata collo stesso liquido privo di tiroxina.

In tutti gli esperimenti di perfusione il volume totale del liquido, che ha perfuso il preparato per la durata di un'ora, varia notevolmente da un caso all'altro. L'intensità dell'edema non è però affatto in relazione con tale volume, come osservò già Gayda (1).

Infine i risultati ottenuti dalle determinazioni della idrofilia dei tessuti, in base all'indice di Aldrich e Mc Clure, e prospettati nella tabella V stanno in appoggio ai risultati ottenuti dagli esperimenti di perfusione; infatti indicano che il tempo di assorbimento della bolla intradermica di soluzione fisiologica è minore negli animali stiroidati che in quelli di controllo.

Dal complesso dei fatti messi in evidenza da tutti gli esperimenti da me eseguiti emerge chiaramente l'importanza della tiroide nella genesi dell'edema da perfusione con soluzioni saline: essa esercita sui tessuti una spiccata funzione antiedematosa.

Tale funzione, già nota da lungo tempo nell'organismo integro, viene messa in nuova luce dai risultati dei miei esperimenti. Questi infatti indicano che i tessuti, anche quando siano staccati dall'organismo e vengano irrorati con un liquido privo di ormoni tiroidei, conservano, nel loro ricambio idrico, le proprietà che sono state loro impresse dalla presenza o meno della tiroide. Non è possibile dire se tali proprietà siano dovute all'esistenza o meno degli ormoni tiroidei nei tessuti staccati, oppure siano da attribuire a modificazioni delle loro condizioni fisico-chimiche determinate precedentemente dagli stessi ormoni, quando i tessuti erano ancora in sito.

IV. — Conclusioni.

1. — L'edema, che si produce in un preparato d'orecchio o di zampa posteriore di coniglio, quando venga perfuso con liquido di Ringer-Locke ossigenato, ha un'intensità praticamente costante.

2. — Dopo la tiroidectomia, quando sono manifesti i segni della deficienza tiroidea, l'edema, che si produce nelle stesse condizioni, è notevolmente maggiore.

3. —La presenza di piccole quantità di tiroxina nel liquido di perfusione è sufficiente per ridurre notevolmente l'edema, che si produce nell'animale normale.

4. — L'idrofilia dei tessuti, dimostrata dall'indice di Aldrich e Mc Clure, è maggiore negli animali stiroidati.

5. — Tutti i fatti osservati devono essere attribuiti alla funzione antiedematosa della tiroide. I tessuti, anche staccati dall'organismo, conservano, nel loro ricambio idrico, le proprietà che sono state loro impresse dalla presenza o meno della tiroide.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Gayda T. Sull'edema da perfusione con soluzioni saline. « Arch. per le Scienze Med. », XXXIX, 389, 1916.

(2) Gayda T. Nuove ricerche sull'edema da perfusione con soluzioni saline. « Arch. di Fisiol. », XXIII, 405, 1925.

(3) Gayda T. Edema da perfusione con soluzioni saline e reazione del liquido di perfusione. « Arch. di Scienze Biolog. », IX, 354, 1927.

(4) Mendel E. Ein Fall von Mixödem. « Deutsch. Med. Wochenschr. », 25, 1893.

(5) Vermehren F. Stoffwechsel-untersuchungen nach Behandlung mit Glandula thyroidea an Individuen mit und ohne Mixödem. « Deutsch. med. Wochenschr. », 1037, 1893.

(6) Wichmann R. Ein Fall von Mixödem, gehessert durch Iniectionen mit Schilddrüsensaft. « Deutsch. med. Wochenschr. », 27, 1893.

(7) Leichtenstern W. Zur Geschichte der Mixödemfrage. « Deutsch. med. Wochenschr. », 251, 1894.

(8) Magnus-Levy. Ueber die Entstehung der Hautödem bei experimenteller hydrämischer Pletora. « Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. », XXXII, 250, 1899.

(9) Diebalia G. und Illyès G. Stoffwechseluntersuchungen an Brightikern unter Schilddrüseneinwirkung. « Arch. f. exper. Patol. u. Pharmakol. », XXXIX, 273, 1897.

(10) Roos E. Ueber Einwirkung der Schilddrüse auf den Stoffwechsel nebst Vorversuchen über die Art der wirksamer Substanz in derselben. « Hoppe Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. », XXI, 19, 1895.

(11) Coronedi G. Studio intorno alla fisiologia della ghiandola tiroide e delle ghiandole paratiroidi. « Studi Sassaresi », V, I, 1907.

(12) Eppinger. Pathologie und Therapie des menschlichen Oedems. Berlin, 1917.

(13) Marsh J. M. Mixedematous ascites removed by thyroid extract. « Americ. Journ. Med. Sc. ». LXXII, 585, 1926.

(14) Parhon, Marza et Cahane. Sur la teneur en eau du tissu musculaire et de certaines organes chez les animaux soumis au traitement thyroïdienne. « Compt. Rend. de la Soc. de Biol. », LXXXXIV, 713, 1926.

(15) Parhon, Marza et Cahane. Action des glandes endocrines sur la teneur en eau des muscles striés. « Compt. Rend. de la Soc. de Biol. », C, 40, 1929.

(16) Bernardbeig et Sendrail. Action de la thyroïdectomie sur l'hydrophilie tissulaire. « Compt. Rend. de la Soc. de Biol. », LXXXXIV, 578, 1928.

(17) Sato CH. Untersuchungen über die Oedembildung. I. Ueber die Oedembildung bei Durchspülung der isolierten Schenkelpräparate von Kaninchem mit gestörter Schilddrüsenfunktion. « Tohoku Journ. exper. Med. », XI, 33, 1928.

(18) Sato CH. Untersuchungen über die Oedembildung. VII. Ueber den Einfluss des Kolloids auf den intermediären Wasseraustausch bei gestörter Schilddrüsenfunktion. « Tohoku Journ. exper. Med. », XI, 489, 1928.

(19) Fischer M. H. Das Oedem. Dresden, 1910.

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. T. GAYDA)

DOTT. RODOLFO FERRARI
AIUTO

Influenza della milza sulle variazioni determinate dalla castrazione e dal trapianto di gonadi eterosessuali nel numero degli eritrociti e dei leucociti, nella quantità di emoglobina e nella formula leucocitaria

I. – Introduzione.

Ricerche iniziate in questo Istituto da TRUFFI (1) e continuate e ampliate da MOLTENI (2) dimostrarono che le nette differenze, che in condizioni fisiologiche e in animali della stessa specie e di sesso diverso si hanno nel numero dei corpuscoli del sangue e della quantità di emoglobina, costituiscono una caratteristica del sesso e sono direttamente influenzate dall'ormone sessuale. La castrazione nel coniglio maschio provoca infatti una netta diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina e una leggiera eosinofilia, nella femmina, all'infuori di un aumento del numero dei linfociti, non produce altre variazioni ematiche. Il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, determina nel maschio una non costante diminuzione del numero degli eritrociti e una lieve diminuzione della quantità di emoglobina, nella femmina un notevole aumento del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina. Tali variazioni scompaiono in due o tre settimane per ricomparire in seguito ad un secondo innesto. MOLTENI arriva quindi alla conclusione che la castrazione, almeno nel maschio, ha tendenza a far scomparire le differenze esistenti fra i due sessi nella costituzione morfologica del sangue, e che il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, tende nei due sessi a far acquistare al sangue la costituzione morfologica propria dell'altro sesso.

Allo scopo di portare un contributo allo studio del determinismo delle modificazioni della costituzione morfologica del sangue, che si verificano nelle condizioni ora descritte, per consiglio del Professor Gayda, ho intrapreso alcune ricerche sulla influenza esercitata a questo proposito dalla milza.

Queste ricerche sono giustificate anzitutto dall'importanza che la milza ha come serbatoio di sangue e come regolatore della quantità di sangue circolante e ciò non solo per quanto riguarda gli eritrociti, ma anche per quello che si riferisce ai leucociti. Tale funzione della milza fu dimostrata già dai primi ricercatori fin dalla metà del secolo scorso (3). Le osservazioni al riguardo furono poi confermate ed ampliate, come è noto, da Barcroft (4, 5), Binet (6), Viale (7), ed altri.

Le mie ricerche sono inoltre giustificate dalle osservazioni compiute da diversi Autori sulle relazioni reciproche tra milza e gonadi.

Così Fichera (8) trovò che la splenectomia, mentre non determina negli animali giovani alcuna alterazione del testicolo, produce invece negli adulti fatti di involuzione fino alla atrofia e alla necrobiosi. Risultati consimili ottenne Giunta (9), della scuola di Fichera. Spirito (10) osservò poi nelle ovaie di animali smilzati un maggior numero di follicoli atresici e di cellule interstiziali. Questi reperti però furono confermati solo in parte dalle ricerche di Kostitch e Telebakowitch (11) sul testicolo e di Kostitch e Radossavlyevitch (12) sull'ovaio. Questi Autori ritengono che normalmente la milza eserciti un'azione frenatrice sull'ormone ovarico.

Analogamente furono fatte osservazioni anche sull'influenza che la castrazione esercita sulla milza.

Così Brauss e Bischoff (13), Matsui e Tamara (14) constatarono che il peso della milza diminuisce dopo la castrazione. Aschner (15) invece rinvenne nel cane un aumento, dovuto prevalentemente a iperplasia dei corpuscoli di Malpighi.

Nell'uomo Freymann (16) rilevò in seguito a splenectomia gravi alterazioni dei caratteri sessuali primari e secondari. D'altra parte sono pure da ricordare nell'uomo gli stati di infantilismo così detto splenogeno [infantilismo palustre, infantilismo sessuale malarico di Macciotta (17), infantilismo epatico di Lereboullet (18)], che integrano il quadro della sindrome del disgenitalismo d'origine splenica, [Radossavlyevitch (19-21)], in cui lo stato d'ipogenitalismo suole associarsi a forme diverse splenomegaliche (malaria, morbo di Banti, cirrosi epatica, ittero emolitico).

II. - Tecnica.

Come nelle ricerche di Truffi e di Molteni, eseguii i miei esperimenti sui conigli.

Determinai anzitutto in quattro maschi e in quattro femmine normali il valore medio del numero degli eritrociti e dei leucociti, della quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue, ed anche in un eritrocito, e la formula leucocitaria, eseguendo gli esami del sangue a distanza di due o tre giorni e per un periodo di tempo che poteva giungere fino ad un mese.

In due maschi (N. 1 e 3) ed in due femmine (N. 2 e 4) praticai quindi la splenectomia e dopo 11-30 giorni la castrazione. Trascorsi altri 12-15 giorni, praticai un primo innesto di gonadi eterosessuali ed infine un secondo innesto eseguii dopo altri 12-18 giorni. Anche dopo questi interventi continuai gli esami del sangue sempre a distanza di 2 o 3 giorni.

In un altro maschio (N. 5) ed in un'altra femmina (N. 6) eseguii solo la castrazione, e dopo 10 giorni, un primo innesto di gonadi eterosessuali e dopo altri 16 giorni un secondo innesto.

Infine nell'ultimo maschio (N. 7) e nell'ultima femmina (N. 8) praticai ancora la castrazione e, dopo 10 giorni, un primo innesto di gonadi eterosessuali, ma, 11-12 giorni dopo questo, eseguii la splenectomia ed infine, 9-10 giorni dopo questa operazione, il secondo innesto. Tanto in questi due animali, come nei due precedenti, continuai, dopo ogni intervento, gli esami del sangue come sopra.

I conigli N. 3 (maschio) e N. 4 (femmina) splenectomizzati e i conigli N. 5 (maschio) e N. 6 (femmina) non splenectomizzati furono sacrificati nel periodo presunto dell'acme dell'azione esercitata dall'innesto. Su di essi eseguii un accurato esame istologico della gonade innestata, della milza, ove questa ancora esisteva, e degli organi ematopoietici.

Eseguì sempre la splenectomia, la castrazione e l'innesto di gonadi eterosessuali senza ricorrere ad alcuna narcosi. Praticai l'innesto seguendo il metodo di Pettinari (22), che consiste nell'innestare la gonade, divisa in due metà, al di sotto dell'aponeurosi dei muscoli addominali, mettendo a diretto contatto dei muscoli la superficie cruentata della gonade.

Eseguì il conteggio dei corpuscoli del sangue con l'apparecchio di Bürker e la determinazione della quantità di emoglobina con quello di Fleischl-Miescher. Colorai gli strisci di sangue col May-Grünwald-Giemsa e le sezioni degli organi coi comuni metodi di colorazione e col Giemsa.

III. – Risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti sono prospettati nelle tabelle I–VIII.

VI. – Discussione dei risultati sperimentali.

Se si esaminano i dati contenuti nelle tabelle V–VIII, si rileva anzitutto che essi confermano completamente quelli ottenuti da Truffi e da Molteni.

Infatti dopo la castrazione si osserva nel maschio una diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina e nella femmina piuttosto un lieve aumento, non costante. I leucociti, se si eccettua la leucocitosi post-operatoria, non subiscono di regola alcuna variazione.

Il trapianto delle gonadi eterosessuali, dopo la castrazione, mentre nel maschio determina una lieve e non costante diminuzione del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina, produce invece nella femmina un notevole aumento. Queste modificazioni scompaiono in 1-2 settimane, per ricomparire in seguito ad un secondo innesto.

Debbo aggiungere, a quanto trovarono Truffi e Molteni, che la quantità di emoglobina contenuta in un eritrocito, come risulta dalle tabelle, non subisce variazioni degne di nota, in seguito alla castrazione ed al trapianto di gonadi eterosessuali.

Il fatto che tutte le variazioni osservate nel sangue si riproducono in modo costante col ripetersi dell' innesto e perdurano fino a completo riassorbimento della parte innestata conferma l' opinione che si tratti veramente di una influenza che gli ormoni sessuali esercitano sulla costituzione morfologica del sangue.

Dall' esame delle tabelle I–IV e VII-VIII risulta poi che, in seguito alla splenectomia, il numero degli eritrociti diminuisce costantemente per ritornare alla norma in 8–10 giorni. Anche il numero dei leucociti presenta spesso una diminuzione. Talvolta si osserva, dopo la splenectomia, una diminuzione della quantità di emoglobina contenuta in ogni eritrocito (anemia a tipo clorotico), diminuzione però molto meno accentuata di quella constatata da Viale (23) nelle stesse condizioni.

Ma il risultato più importante, ottenuto dai miei esperimenti e prospettato nella tabella I–IV, è il fatto che costantemente negli animali splenectomizzati tanto la castrazione, quanto il successivo trapianto di gonadi eterosessuali non determinano più alcuna varia-

zione nè del numero degli eritrociti, nè della quantità di emoglobina.

Questo fatto è confermato dai dati raccolti nelle tabelle VII e VIII, che indicano che, nello stesso animale, l'innesto di gonadi eterosessuali, eseguito dopo la splenectomia, non provoca più quelle variazioni del sangue che, prima della splenectomia, erano state prodotte da un primo innesto.

Una conseguenza così manifesta della splenectomia dimostra che la milza interviene nel determinare le variazioni ematiche, che si osservano per effetto della castrazione e del successivo trapianto di gonadi eterosessuali. Le difficoltà sorgono quando si tratta di stabilire per quale meccanismo la milza possa determinare tali variazioni. Ci si deve chiedere se le variazioni del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina sono dovute ad un aumento reale od apparente o ad una maggiore o minore produzione o distruzione degli eritrociti o ad una immissione o meno in circolo di elementi che normalmente si possono accumulare in organi di riserva (milza, fegato).

Nei miei esperimenti l'accurato esame istologico degli elementi del midollo osseo, mentre ha rivelato una maggiore attività ematopoietica di tutti gli elementi del midollo nella femmina castrata, ma non splenectomizzata, durante l'azione dell'innesto di testicolo, non ha più dimostrato tale attività, se all'innesto di testicolo si era fatto precedere la splenectomia.

Si può quindi ritenere che l'aumento costante e duraturo del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina, che segue all'innesto del testicolo, sia dovuto ad una loro maggior produzione.

L'aver potuto cogliere queste differenze si deve attribuire al fatto che non si tratta di variazioni fugaci e rapide, ma bensì durature e costanti.

Le variazioni riscontrate nel midollo si possono ritenere analoghe a quelle che si osservano notoriamente in molti animali all'epoca della fregola, allorchè, sotto l'influsso degli ormoni sessuali, si ha un generale e ben dimostrabile risveglio nell'attività degli organi ematopoietici.

Volendo riassumere i risultati dei miei esperimenti, alcuni fatti sembrano degni di essere maggiormente rilevati:

1) gli ormoni sessuali esercitano una influenza indubbia sulla costituzione morfologica del sangue così da determinarvi nei due sessi dei veri e proprii caratteri sessuali secondari;

2) questa influenza si esercita sugli organi ematopoietici, con l'intermediario della milza.

Accanto quindi alle osservazioni cliniche di rapporti tra milza e caratteri sessuali primari, si devono ammettere anche rapporti fra milza e caratteri sessuali secondari del sangue.

V. - Conclusioni.

1) Nei conigli normali è confermata l'influenza che gli ormoni sessuali esercitano sulla costituzione morfologica del sangue, in quanto che si è constatato che il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina, dopo la castrazione, diminuiscono nel maschio e aumentano lievemente e non costantemente nella femmina e, dopo il successivo trapianto delle gonadi eterosessuali, diminuiscono lievemente e non costantemente nel maschio e aumentano notevolmente nella femmina.

2) Nei conigli splenectomizzati tanto la castrazione, quanto il successivo trapianto di gonadi eterosessuali non determinano più alcuna variazione nè del numero degli eritrociti, nè della quantità di emoglobina.

3) Mentre nella femmina castrata, ma non splenectomizzata, tutti gli elementi del midollo osseo dimostrano, dopo l'innesto di testicolo, una maggiore attività ematopoietica, questa non si manifesta più se all'innesto di testicolo si fa precedere la splenectomia.

4) L'influenza, che gli ormoni sessuali esercitano sulla costituzione morfologica del sangue, si esplica sugli organi ematopoietici con l'intermediario della milza.

Bibliografia.

1) Truffi G. — Influenza della castrazione e del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero delle emazie e sulla quantità di emoglobina. - Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim., II, 836, 1927.

2) Molteni P. — Influenza della castrazione e del trapianto delle gonadi eterosessuali sul numero degli eritrociti, sulla quantità di emoglobina e sulla formula leucocitaria. - Haematologica, X, 517, 1929.

3) Milne E. H. — Leçons sur la physiologie et l'anatomie comparée de l'homme et des animaux. I, 352, 1857; VII, 251, 1862.

4) Barcroft J., Murraj C., Orahovats D., Sands J. and Weiss R. — The influence of the spleen in carbon monoxide poisoning. - Journ. of Physiol., LX, 79, 1925.

5) Id., Harris H. A., Orahovats D., Weiss R. — A contribution to the physiology of the spleen. - Journ. of. Physiol., LX, 443, 1925.

6) Binet L. — La physiologie de la rate, Chahine, Paris, 1927.

7) Viale G. — La milza organo regolatore del numero dei corpuscoli rossi e bianchi circolanti. - Archivio di Fisiologia, XXV, 380, 1927.

8) Fichera G. — Correlazioni fra milza e glandole genitali. - Comun. XXIX adunanza della Soc. It. di Chir., Arch. ed atti della Soc. It. di Chir., 1923.
9) Giunta A. — Ricerche sperimentali sui rapporti tra splene e gonadi. - Policlinico, Sez. Chir., I, 82, 1924.
10) Spirito F. — Milza e genitali. - Arch. di Ostetricia e Ginecologia, 1926.
11) Kostitch A., et Telebakowitch — Effet de la splénectomie sur la glande génitale mâle. - Compt. Rend. de la Soc. de Biol., C., 54, 1929.
12) Id. et Radossavlyeuitch A. — Effet de la splénectomie sur la fonction ovarienne (cycle oestrien). - Compt. Rend. de la Soc. de Biol., C. 56, 1929.
13) Brauss und Bischoff — Citato da Radossalvyevitch A., (21).
14) Matsui e Tamara — Idem
15) Aschner B. — Ueber Morphologie und Function des Ovariums unter normalen und pathologischen Verhältnissen. (Ovarium und infantilismus). - Arch. für Ginec., III, 447, 1914.
16) Freimann G. — Beitrag zur Kenntnis Weiterer allgemein-pathologischer Beziehungen beim hämolytischen Ikterus. - Klin. Wochenschr., 2229, 1922.
17) Macciotta G. — Funzioni ed importanza della milza nei processi dello sviluppo e dell'accrescimento. - Riv. Clin. ped., XXV, 857, 1927.
18) Lereboullet — Congrés allemand des maladies de la digestion, 1925.
19) Radossavlyevitch A. — L'infantilisme splénogène. - Rec. des travaux en l'honneur du prof. Syllaba, 1928.
20) Id. — Syndrome splenogénital. - Congr. franç. méd., 1927.
21) Id. et Kostitch A. — Le disgenitalisme d'origine splénique. - Rev. franç. VII, 22, 1929.
22) Pettinari V. — Ricerche sperimentali sull'innesto di ovaia nei mammiferi. - Riv. di Biol., VIII, 141. 1926.
23) Viale G. — Sindrome clorotica negli animali senza milza. - Riv. di Pat. Sperim., III, 454, 1928.

Résumé.

Les recherches de l'A. confirment en premier lieu que la castration tend, du moins chez le mâle, à faire disparaître les différences existant entre les deux sexes dans la constitution morphologique du sang ; et que l'implantation ultérieure des gonades de l'autre sexe tend à faire acquérir au sang la constitution propre à l'autre sexe.

Elles ont montré ensuite que chez les lapins dératés, aussi bien la castration que l'implantation des gonades hétérosexuelles ne déterminent plus aucune variation dans les nombre des hématies et dans la quantité d'hémoglobine.

Etant donné que les variations hématiques provoquées par la castration et par l'implantation des gonades hétérosexuelles sont accompagnées par des variations correspondantes de l'activité hémopoïétique de la moëlle osseuse, l'A. conclut que l'influence exercée par les hormones sexuels sur la constitution morphologique di sang, se manifeste sur les organes hémopoïétiques par l'intermédiaire de la rate.

Coniglio N. 1, maschio.

Condizione dell'animale	Data 1928 e 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	29-12	—	2,100	4.480.000	11,22	25	—					
	4-1	—	2,150	4.620.000	11,67	25	9.240					
	16-1	—	2,160	4.240.000	11,22	26	8.800	43	1	3	43	10
	17-1	—	2,150	4.500.000	—	—	9,700					
Smilzato	29-1	3	2,300	4.220.000	10,53	24	8.600					
	30-1	4	2.320	4.260.000	10,74	25	8.900	44	1	0	46	9
	3-2	8	2,350	4.610.000	10,77	23	5.800					
	5-2	10	2,350	4.670.000	10,94	23	6.300					
Castrato	9-2	3	2,350	4.650.000	11,88	25	7.280					
	11-2	5	2,320	4.668.000	11.67	25	6.400					
	12-2	6	2,340	4.500.000	11.67	25	—	48	0	0	39	13
	14-2	8	2,350	4.670.000	11,88	25	—					
	17-2	11	2,350	4.530.000	11,43	25	8.100					
Innestato la 1ª volta	22-2	1	2,400	4.700.000	10,95	23	10.200					
	23-2	2	2,400	4.730.000	11,67	24	—					
	25-2	4	2,350	4.660.000	10,05	21	8.800					
	26-2	5	2,400	4.640.000	10,32	22	8.290	46	0	0	42	12
	3-3	10	2,450	4.560.000	11,67	25	—					
	7-3	14	2,500	4.700.000	10,95	23	—					
	9-3	16	2,500	4.600.000	10,88	23	9.650					
Innestato la 2ª volta	11-3	1	2,500	4.560.000	11,67	25	—					
	12-3	2	2,550	4.680.000	11,04	23	—					
	14-3	4	2,600	4.520.000	11,22	24	7.460	45	1	0	43	11
	15-3	5	2,650	4.590.000	10,77	23	—					
	19-3	9	2,650	4.600.000	11,01	23	8.320					
	23-3	19	2,700	4.675.000	11.16	23	7.000					

Osservazioni — La splenectomia fu eseguita il 26-1-1929; la castrazione il 6-2-1929; il 1° innesto di ovaio il 21-2-1929; il 2° innesto il 10-3-1929.

Coniglio N. 2, femmina.

Condizione dell'animale	Data 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	4-1	—	2,800	4.110.000	8,97	21	—					
	16-1	—	2.800	4.260.000	9,15	21	12.000					
	18-1	—	2.760	4.000.000	9,42	23	11.200	50	0	3	41	6
	19-1	—	2,750	4.200.000	9,42	22	10.900					
Smilzato	28-1	5	2,600	3.880.000	8,07	20	—					
	29-1	6	2.650	3 886.000	8,25	21	8.100					
	31-1	8	2,650	4.040.000	9,87	23	8.400	47	2	3	42	6
	2-2	10	2,650	4.080.000	10,08	24	7.700					
Castrato	9-2	3	2,700	4.250.000	9,87	23	10.120					
	11-2	5	2,700	4.292.000	10,05	23	—					
	12-2	6	2,750	4.270.000	10,95	23	9.400	45	3	1	44	7
	14-2	8	2,750	4.310.000	10,86	25	—					
	17-2	11	2,750	4.325.000	11,22	25	10.100					
Innestato la 1ª volta	22-2	1	2,700	4.280.000	10,95	25	8.800					
	23-2	2	2,680	4.360.000	10,53	24	—					
	25-2	4	2,650	4.156.000	10,20	24	10.980	52	0	0	37	11
	26-2	5	2,650	4.098.000	10,32	25	9.000					
	28-2	7	2,670	4.240.000	10,05	23	—					
	2-3	9	2,670	4.310.000	10,95	25	9.960					
	10-3	17	2,700	4.340.000	11,22	25	—					
Innestato la 2ª volta	13-3	2	2,650	4.380.000	11,22	25	—					
	15-3	4	2,650	4.330.000	10,77	24	10.500					
	19-3	8	2,700	4.220.000	11,67	27	6.800	49	0	1	37	13
	22-3	11	2,700	4.175.000	10,43	24	7.660					

Osservazioni — La splenectomia fu eseguita il 23-1-1929; la castrazione il 6-2-1929; il 1° innesto di testicolo il 21-2-1929; il 2° innesto il 10-3-1929.

Coniglio N. 3, maschio.

Condizione dell'animale	Data 1928 e 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	29-12	—	2,000	4 570.000	11,67	25	—					
	4-1	—	2,050	4.700.000	11,43	26	10.080					
	16-1	—	2,050	4.460 000	9,42	21	9.600	30	0	1	58	11
	17-1	—	2,070	4 510.000	10,42	23	10.300					
Similzato	29-1	3	2,100	4.040.000	10,50	25	6.000					
	30-1	4	2.200	4.100.000	10,63	25	6.300					
	3-2	8	2.250	4.390.000	10,32	23	6.400					
	5-2	10	2,300	4.480.000	10,87	23	7.100	35	2	1	52	10
	9-2	14	2,300	4.620.000	10,53	23	8.000					
	11-2	16	2,300	4.600.000	10,50	22	7.840					
	17-2	22	2,320	4.636.000	11,67	24	6.820					
Castrato	23-2	1	2,350	4.460.000	11,22	25	7.900					
	25-2	3	2.350	4 590.000	11.34	24	8.500					
	27-2	5	2,400	4.400.000	10,77	24	8.000	40	1	0	43	16
	28-2	6	2,400	4.490.000	10,95	24	—					
	2-3	8	2,450	4.500.000	11,01	24	9.900					
Innestato la 1ª volta	7-3	1	2,500	4 590.000	10,32	22	10.300					
	9-3	3	2,500	4.570.000	10,50	22	9.800					
	13-3	7	2,500	4.480.000	10,98	24	—	44	2	6	28	20
	14-3	8	2,520	4.506.000	11,15	24	8.700					
	16-3	10	2,550	4.450.000	10,75	24	—					
	17-3	11	2,550	4.490.000	10,89	24	9.500					
Innestato la 2ª volta	19-3	1	2,600	4.400.000	11,22	25	12.000					
	21-3	3	2,600	4.498.000	10,89	23	10.500	49	0	2	34	15
	23-3	5	2,600	4.485.000	10,67	23	11.400					

Osservazioni — La splenectomia fu eseguita il 26-1-1929; la castrazione il 22-2-1929; il 1° innesto di ovaio il 6-3-1929; il 2° innesto il 18-3-1929. Si uccide l'animale il 25-3-1929 e si asportano pezzi di midollo osseo, di fegato, di linfoghiandole e della gonade innestata per l'esame istologico.

TABELLA IV.

Coniglio N. 4, femmina.

Condizione dell'animale	Data 1928	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito $10-12$ g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monocici %
Normale	4-1	—	2,150	4.020.000	9,42	23	—					
	16-1	—	2,200	4.050.000	9.87	24	11 600					
	18-1	—	2,150	4.050 000	8.97	22	10.800	41	1	2	50	6
	19-1	—	2,150	4 280.000	9,42	22	9.400					
Smilzato	28-1	5	2,160	3.870.000	8,70	22	—					
	29-1	6	2.200	3 870.000	8,56	22	7.000					
	31-1	8	2.200	3.960.000	8,97	22	8.200	64	0	0	22	13
	2-1	10	2,200	3.910.000	—	—	6.600					
	9-2	17	2,250	4.240.000	10,92	25	7.100					
	11-2	19	2,250	4 190.000	10,77	25	10.500	51	1	0	38	10
	14-2	22	2,200	4 480.000	12,18	27	11.200					
	17-2	25	2,200	4.390.000	10,95	24	8.230					
Castrato	23-2	1	2,100	4.300.000	11,22	26	10 860					
	25-2	3	2,050	4 330.000	11,04	25	9.340					
	27-2	5	2,100	4.400.000	12,12	27	—					
	28-2	6	2,130	4.460.000	12,00	27	8.600	47	1	0	43	9
	2-3	8	2,100	4.500.000	11,22	24	—					
	4-3	10	2,100	4.490 000	11,67	25	6.100					
Innestato la 1ª volta	7-3	1	2,100	4.450.000	11,67	26	9.000					
	8-3	2	2,100	4.510.000	10,77	23	—					
	9-3	3	2,100	4.480.000	10,98	24	7.300	53	1	0	37	9
	10-3	4	2,050	4.530.000	11,22	24	—					
	13-3	7	2.050	4.392.000	10,77	24	—					
	15-17	9	2,050	4.460.000	11,10	25	9.240					
	17-3	11	2,070	4.420.000	10,95	25	—					
Innestato la 2ª volta	19-3	1	2,100	4.960.000	11,55	26	11.290					
	21-3	3	1,100	4.380.000	10,77	24	8.450	—	—	—	—	—
	23-3	5	2,100	4.360.000	11,22	25	—					

Osservazioni — La splenectomia fu eseguita il 23-1-1929; la castrazione il 22-2-29; il 1° innesto di testicolo il 6-10-29; il 2° innesto in 18-3-29. Si uccide l'animale il 25-3-29 e si asportano pezzi di midollo osseo, di fegato e di linfoghiandole e della gonade innestata per l'esame istologico.

TABELLA V.

Coniglio N. 5, maschio.

Condizione dell'animale	Data 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitasia				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	14-2	—	2,000	5.280.000	11,40	21	—					
	15-2	—	2,050	5.300 000	11,67	22	9.100					
	16-2	—	2,050	4.940 000	11,22	22	—	50	0	1	36	8
	17-2	—	2,050	5.080.000	11,40	22	8.400					
Castrato	22-2	1	2,060	4 800.000	11,22	23	11.090					
	23-2	2	2,050	4 520.000	11,55	25	8 000					
	24-2	3	2,050	4 630 000	10,95	23	—					
	25-2	4	2,000	4 910 000	11,04	22	—	52	1	1	37	9
	26-2	5	2,020	5.080.000	11,67	22	8.960					
	28-2	7	2,050	5.100.000	12.12	23	—					
	1-3	8	2,100	5 060.000	11.82	23	7.450					
Innestato la 1ª volta	3-3	1	2.100	4.940.000	11,58	23	8.230					
	4-3	2	2,100	4.890 000	10,98	22	6.700					
	5-3	3	2,130	4.870.000	10,77	24	8.500	50	50	1	36	14
	7-3	5	2,100	4 990.000	10,50	21	—					
	10-3	8	2,150	5.100.000	12,12	23	—					
	13-3	11	2,100	5.100.000	11,67	22	9 600					
	15-3	13	2,070	5 080.000	11,55	22	10.500					
Innestato la 2ª volta	19-3	1	2,100	4.920.000	11,22	22	10.200					
	22-3	4	2,040	4.710.000	10,33	22	8.300	49	0	0	39	12
	23-3	5	2,050	4.780 000	10,25	21	8.980					
	25-3	7	2,050	4.460.000	10,67	23	—					

Osservazioni. — La castrazione fu eseguita il 21-2-1929; il 1° innesto di ovaio il 2-3-1929; il 2° innesto il 18-3-1929. Si uccide l'animale il 25-3-1929 e si asportano pezzi di midollo osseo, di milza, di linfoghiandole, di fegato e della gonade innestata per l'esame istologico.

Coniglio N. 6, femmina.

Condizione dell'animale	Data 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitasia				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	14-2	—	1.900	5.000.000	11,88	23	—					
	15-2	—	1.900	4.890.000	11.22	23	7.600					
	16-2	—	1,920	5.160 000	12.12	23	—	41	0	1	42	16
	17-2	—	1.920	5.220.000	11,95	23	6.900					
	19-2	—	1,850	4 880 000	11.22	23	—					
Castrato	21-2	1	1,850	5.220.000	12,12	23	8.200					
	23-2	3	1,870	5.180 000	12,57	24	—					
	24-2	4	1.840	4 960 000	11,67	23	6.180	42	0	0	46	14
	25-2	5	1,800	5.010.000	11,04	22						
	28-2	8	1,800	4.980.000	10,92	21	7.200					
Innestato la 1ª volta	3-3	1	1,750	5 130.000	13,20	25	7.540					
	4-3	2	1,750	5.140.000	13,02	25	—					
	6-3	4	1,770	5.210.000	12,75	24	6.630					
	7-3	5	1,800	5.300.000	12,98	24	7.000	44	0	1	45	10
	10-3	8	1,800	5 620.000	13,12	25	8 400					
	13-3	11	1,850	5.100.000	12,30	24	10.500					
	15-3	13	1,850	4.580 000	11,67	24	6.400					
	17-3	15	1,900	4 620.000	11,55	24	8.600					
Innestato la 2ª volta	19-3	1	1,950	5.100.000	12.12	24	11.800					
	20-3	2	1,950	5.180.000	12,65	25	—					
	21-3	3	1,900	5.230 000	13,11	25	10.250	43	0	0	45	12
	23-3	5	1,900	5.650.000	13,20	23	7.500					

Osservazioni. — La castrazione fu eseguita il 20-2-1929; il 1° innesto il 2-3-1929; il 2° innesto il 18-3-1929. Si uccide l'animale il 25-3-1929 e si asportano pezzi di midollo osseo, fegato, milza, linfoghiandole e della gonade innestata per l'esame istologico.

Coniglio N. 7, maschio.

Condizione dell'animale	Data 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito 10^{-12} g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	24-2	—	2,100	4.320.000	10,32	23	8.400					
	25-2	—	2,100	4.420.000	10,32	23	—					
	26-2	—	2,150	4.140.000	10.77	25	9.200	56	0	0	36	8
	27-2	—	2,150	4 360.000	10,50	23	7.000					
	2-3	—	2,150	4.400.000	11,22	25	—					
Castrato	7-3	1	2,000	3.730 000	9,87	26	8 800					
	8-3	2	2.000	3 690.000	9,32	26	—					
	9-3	3	2.100	3.590.000	9.32	26	6.400	48	0	0	35	17
	10-3	4	2,070	3.640.000	9.60	26	—					
	13-3	7	2,000	3.940.000	10.32	25	—					
	15-3	9	2.050	4.420.000	10,32	23	—					
Innestato la 1ª volta	17-3	1	2.050	4 400.000	9,67	22	11.300					
	18-3	2	2,050	4.200.000	9,55	22	8.600					
	19-3	3	2,100	4.180.000	10,11	24	—	46	0	1	41	12
	20-3	4	2,100	4.540.000	10,32	23	7.500					
	23-3	7	2,150	4.455.000	11,29	24	9.400					
	27-3	11	2,150	4.440.000	10,91	24	7.000					
Smilzato	29-3	1	2,070	4.320.000	11,22	25	14.500					
	1-4	4	2,100	4.240.000	9,55	22	10.000					
	2-4	5	2,100	3.990.000	10,55	26	8.600	44	0	0	43	13
	3-4	6	2,150	3.825.000	9,17	24	—					
	4-4	7	2,170	4.400.000	9,60	21	9.500					
	5-4	8	2,200	4.490.000	11,67	25	10.600					
Innestato la 2ª volta	8-4	2	2,200	4.680.000	11,46	24	12.000					
	10-4	4	2,150	4.400.000	11,22	25	8.500					
	13-4	7	2,150	4.520.000	11,22	25	7.800	42	1	1	45	11
	17-4	11	2,200	4.490 000	11,67	25	8.200					
	20-4	14	2,200	4.600.000	11,46	24	9.700					

Osservazioni — La castrazione fu eseguita in 6-3-1929; il 1° innesto di ovaio il 16-3-1929 la splenectomia il 27-3-1929; il 2° innesto il 6-4-1929.

Coniglio N. 8, femmina.

Condizione dell'animale	Data 1929	Giorno dall'intervento	Peso del corpo kg	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Emoglobina in 100 cm³ di sang. g	Emoglobina in 1 eritrocito $i0^{-12}$ g	Numero dei leucociti in 1 mm³ di sangue	Formula leucocitaria				
								Neutrofili %	Eosinofili %	Basofili %	Linfociti %	Monociti %
Normale	26-2	—	3,300	3.970.000	9,42	23	6 800					
	28-2	—	3,300	4.760.000	10,22	22	—					
	1-3	—	3,250	4.650.000	11.67	24	8.500	52	1	1	35	11
	3-3	—	3,250	4 670.000	10,95	23	—					
Castrato	7-3	1	3,200	4.650 000	11,85	25	6 300					
	8-3	2	3,150	4 820.000	11,85	24	—					
	9-3	3	3,100	4.860.000	12.12	25						
	10-3	4	2,950	5.010.000	12,30	24	6.700	49	2	0	37	12
	12-3	6	2,950	4.710.000	10,32	22	—					
	15-3	9	2,900	4.600.000	11,67	24	—					
Innestato la 1ª volta	17-3	1	2,900	4 750.000	11,95	25	11.200					
	18-3	2	2,950	5.045 000	12,04	23	—					
	19-3	3	2,950	5.320.000	12,25	23	9.500					
	20-3	4	3,000	5.195.000	12,80	24	—	47	1	0	40	12
	23-3	7	3,000	5.135.000	13,20	25	7.300					
	25-3	9	2,950	5.100.000	11,67	22	7.500					
Smilzato	29-3	2	3,000	4.580.000	9.87	22	13.000					
	1-4	5	2,950	4.510.000	10,05	22	12.500					
	2-4	6	2,900	4.810.000	10,22	21	—	50	1	0	41	8
	4-4	8	2,900	4.755.000	9,65	20	7.700					
	5-4	9	2,900	4 730 000	10,12	21	8.000					
Innestato la 2ª volta	8-4	2	2,950	4.830.000	10,75	22	9.400					
	10-4	4	2,950	4.750.000	11,14	23	—					
	13-4	7	3,000	4.715.000	10,46	23	6.500	46	1	0	42	11
	17-4	11	3,000	4.780 000	10,50	22	8.200					
	20-4	14	3,000	4.760.000	11,22	23	—					

Osservazioni — La castrazione fu eseguita in 6-3-1929; il 1° innesto di testicolo il 16-3-1929; la spleuectomia il 27-3-29; il 2° innesto il 6-4-1929.

INFLUENZA DELLE PROTEINE DEL SANGUE SULLA SCOMPARSA DELL'EDEMA NELLA RANA SALATA.

Del dott. Rodolfo Ferrari, Aiuto.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia).

Nella preparazione della rana salata, come aveva già notato Gayda (1), osservai sempre che la sostituzione del sangue dell'animale con una soluzione salina è seguita immediatamente da un edema, che però scompare nello spazio di qualche giorno. Poichè Gayda (2), dimostrò che l'edema da perfusione con soluzioni saline si può impedire aggiungendo al liquido di perfusione dei colloidi, pensai che la scomparsa graduale dell'edema nella rana salata fosse dovuta alla penetrazione di proteine in circolo.

Per accertare se ciò corrisponde veramente alla realtà, esaminai in 10 rane salate il comportamento dell'edema, pesando l'animale prima e subito dopo la perfusione e, successivamente, a distanza di tempo, altre 5 o 6 volte fino alla scomparsa completa dell'edema. Contemporaneamente determinai la quantità dell'N proteico del sangue, col micrometodo di Kjeldahl, secondo la tecnica indicata da Bang. Determinai però l'ammoniaca distillata, non titolimetricamente, ma colorimetricamente, mediante il reattivo di Nessler.

Nella tabella sono riassunti i risultati degli esperimenti.

Dall'esame di questa tabella si rileva chiaramente che:

1) L'aumento percentuale che subisce il peso della rana salata,

(1) Gayda T. - *Arch. di Scienze Biologiche*, 1921, 2, 333.

(2) Idem. - *Arch. per le Scienze Mediche*, 1926, 39, 389.

SCHOOLS OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

per effetto dell'edema, oscilla fra il 40,8 % e il 49,9 % ed è uguale in media al 44,8 %. Tale edema è massimo subito dopo la perfusione, va diminuendo gradualmente in seguito fino a scomparire nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento.

TABELLA

Numero, sesso e peso della rana	Ora dalla perfusione	Variazioni del peso della rana, %	Proteine in 100 g di sangue g	Numero, sesso e peso della rana	Ora dalla perfusione	Variazioni del peso della rana, %	Proteine in 100 g di sangue g
	1/4	+ 40,8	0,306		1/4	+ 49,9	0,187
I ♂	7	+ 34,4	0,662	VI ♂	26	+ 31 6	1,021
	29	+ 9,9	1,581		56	+ 7,1	1,518
36,73 g	60	+ 6,8	1,737	27,60 g	74	+ 1,7	2,350
	82		2,337		115		2,556
	1/4	+ 45,3	0,087		1/4	+ 46,0	0,250
II ♀	19	+ 24,7	1,350	VII ♂	24	+ 35,4	0,606
	40	+ 10,0	1,475		45	+ 15,5	1,381
30,84 g	72	+ 0,16	2,212	32,33 g	70	+ 0,9	2,437
	145		2,406		116		2,406
	1/4	+ 41,0	0,150		1/4	+ 49,9	0,088
III ♀	19	+ 28,1	1,631	VIII ♀	21	+ 29,4	1,168
	42	+ 15,4	1,693		47	+ 17,3	1'593
34,73 g	71	+ 8,5	2,125	27,53 g	72	+ 2,0	2,187
	95		2,343		119		2,237
	1/4	+ 44,8	0,237		1/4	+ 48,4	0,300
IV ♂	31	+ 12,2	0,918	IX ♀	25	+ 40,6	1,018
	61	+ 9,5	1,456		48	+ 16,3	1,838
32,11 g	80		2,137	22,71 g	66	+ 1,9	2,288
	121		2,294		112		2,325
	1/4	+ 40,9	0,262		1/4	+ 41,2	0,287
V ♀	30	+ 34,7	1,043	X ♀	22	+ 22,4	1,294
	54	+ 19,3	1,706		50	+ 13,0	1,544
24,73 g	80		2,381	51,43 g	76	+ 5,1	2,462
	126		2,213		123		2,506

2) La quantità di proteine contenuta in 100 g di sangue della rana salata, subito dopo la perfusione, oscilla fra g 0,087 e g 0,306 ed è uguale in media a g 0,203. Tale quantità aumenta in seguito gradualmente fino a raggiungere il valore normale nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento.

3) Tra la diminuzione dell'edema e l'aumento delle proteine del sangue sussiste una relazione costante. Infatti l'edema ha una intensità massima quando la quantità di proteine del plasma è minima, diminuisce in seguito quando tale quantità aumenta e scompare completamente quando essa ha raggiunto il suo valore normale.

I fatti da me osservati mettono in rilievo la parte sostenuta dalle proteine del sangue nella scomparsa dell'edema nella rana salata e confermano l'importanza che hanno, secondo Gayda, i colloidi nel liquido circolante nell'impedire l'edema da perfusione con soluzioni saline.

SULLA FUNZIONE FAGOCITARIA DEI MEGALOBLASTI NELLO SVILUPPO ONTOGENETICO DELLA RANA.

Del dott. Rodolfo Ferrari, Aiuto.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia).

Nelle prime fasi dello sviluppo ontogenetico dei mammiferi, Di Guglielmo (1) constatò, nel sangue circolante, la presenza di cellule mesenchimali (primitive cellule migranti del sangue) nelle varie fasi di evoluzione verso i megaloblasti. Con tutta probabilità tali cellule esercitano, secondo Di Guglielmo, una funzione fagocitaria macrofaga. Per accertare questo fatto, eseguii alcune ricerche sulle uova in via di sviluppo e sui girini di rana, in cui il fenomeno fagocitario avviene in modo particolarmente intenso e conclamato. Su di esse eseguii strisci e sezioni, che colorai rispettivamente col *May-Grünwald-Giemsa* e col *Giemsa*. Questa ricerca è giustificata anche dal fatto, osservato da Ruffini (2), che, nell'embrione di pollo, numerosi granuli di vitello vengono ceduti dal plasmodio mesenchimale alle prime isole del sangue. Ciò fa pensare che la funzione fagocitaria della primitiva cellula migrante del sangue possa essere una funzione di nutrizione.

(1) Di Guglielmo G. - *Haematologica*, 1922, 3, 469.
(2) Ruffini. - Fisiogenia, Milano, 1925.

Come risulta chiaramente dai miei preparati, nei primi stadi dello sviluppo ontogenetico della rana, le cellule del sangue sono rappresentate esclusivamente dalle primitive cellule migranti e da cellule della serie emoglobinica megaloblastica (promegaloblasti, megaloblasti basofili e policromatofili). Il fatto di maggior rilievo è che non solo la primitiva cellula migrante del sangue, ma anche i megaloblasti presentano una spiccata attività fagocitaria verso i granuli di vitello.

La struttura morfologica delle cellule da me osservate, è la seguente:

1) *Primitiva cellula migrante del sangue della rana.*

È cellula polimorfa, d'aspetto endotelioide, con protoplasma vacuolizzato, lievemente basofilo, a contorno più o meno irregolare, con fenomeni di clasmatosi. Il nucleo, a forma di piccola spugna, ha una struttura cromatinica a maglie sottili. I nucleoli sono bleu chiari, senza sovrapposizione cromatinica. Grossi granuli della sostanza vitellina sono incorporati nella massa protoplasmatica della cellula.

2) *Promegaloblasto della rana.*

La cellula ha una forma, per lo più, tondeggiante. Il protoplasma, che è sempre vacuolizzato e inglobante grossi granuli della sostanza vitellina, presenta, per fenomeno paradosso, una basofilia molto accentuata. Il nucleo ha la stessa struttura istioide di quello della cellula precedente ed è provvisto di nucleoli di colore bleu molto oscuro.

3) *Megaloblasto basofilo.*

La cellula ha protoplasma ampio, intensamente basofilo, sempre vacuolizzato e contenente granuli del vitello. Alcuni di questi sono distintamente circondati da una zona protoplasmatica più chiara (camera digestiva). Il nucleo presenta un forte ispessimento della cromatina che ricopre e, talvolta, nasconde i nucleoli. Tra le maglie della cromatina il fondo è chiaramente rosa.

4) *Megaloblasto policromatofilo.*

È modificato il rapporto nucleo-citoplasmatico della cellula. Il nucleo è più piccolo e il protoplasma, ampio, è policromatofilo. Rari sono i vacuoli e le masse del vitello nel citoplasma.

Dai fatti messi in evidenza dalle mie ricerche risulta chiaramente che:

1) Nelle prime fasi dello sviluppo ontogenetico della rana, la struttura morfologica delle cellule staminali del sangue è simile a quella degli animali superiori.

2) È documentata la presenza nel sangue embrionale circolante di cellule istioidi in evoluzione megaloblastica e in attività fagocitaria.

3) L'attività fagocitaria della primitiva cellula migrante del sangue della rana è una funzione di nutrizione. È importante rilevare che tale funzione non si verifica soltanto nella cellula originaria emoistioblastica, ma anche nelle cellule differenziate della serie emoglobinica megaloblastica.

Questo fatto, riscontrato per la prima volta, mette in nuova luce la origine istiocitaria delle cellule emoglobiniche primordiali.

(Con presentazione di tavole e di preparati).

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Direttore: Prof. T. GAYDA)

DOTT. RODOLFO FERRARI
AIUTO

Ricerche ematologiche sulla rana salata.

Eritropoiesi ed eritremia sperimentale

I. - Introduzione e scopo delle ricerche.

Nella letteratura mancano finora ricerche istologiche sui tessuti della rana salata e mi proposi perciò di compierle io in modo sistematico.

Iniziai lo studio coll'esame della costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici. Questa ricerca è giustificata anche dai risultati ottenuti da GAYDA nello studio del ricambio energetico della rana salata. GAYDA trovò, infatti, che nella rana salata la produzione di calore è notevolmente minore che nella rana normale e si mantiene costantemente tale, quasi per tutta la durata della vita dell'animale. Per avere un criterio della neoformazione del sangue, immediatamente dopo ogni determinazione calorimetrica, l'Autore eseguì un conteggio dei corpuscoli del sangue e constatò che, dopo la perfusione, il sangue è estremamente diluito e che in seguito il numero dei corpuscoli del sangue aumenta, ma tale aumento avviene con estrema lentezza. GAYDA eseguì anche alcuni esperimenti allo scopo di rendere più attiva la rigenerazione del sangue della rana salata. Somministrò cioè alla rana salata, prima digiunante, sostanze nutritizie per via enterale o per via parenterale. In una serie di esperimenti alimentò l'animale con carne di rana, in un'altra serie praticò invece la perfusione con liquido di RINGER, in cui la massima parte del cloruro di sodio era stata sostituita da una quantità isosmotica di glucosio. Tanto negli esperimenti di alimentazione quanto in quelli di perfusione con glucosio, GAYDA non notò alcun maggior aumento del numero degli eritrociti in confronto degli animali di controllo.

L'esame del sangue è sufficiente, secondo GAYDA, per spiegare perchè nella rana salata la produzione di calore sia minore che nella rana normale e si mantenga tale per tutta la durata della sua vita. Infatti, per lo scarso numero dei corpuscoli del sangue, la quantità di ossigeno contenuta nel sangue è minore che in condizioni normali e quindi è anche minore la pressione parziale dell'ossigeno nei tessuti e perciò i processi di ossidazione e la produzione di calore sono meno attivi. La produzione di calore nella rana salata si manterrebbe costantemente minore che nella rana normale per tutta la durata della vita, perchè nella rana salata la costituzione del sangue dopo la perfusione non subisce quasi più alcuna variazione. Un altro fatto notevole, che emerge dalle ricerche di GAYDA, è che la vivacità della rana non è affatto alterata in conseguenza dello stato anemico, determinato dalla perfusione, e tutte le rane, nelle quali GAYDA praticò la perfusione, vissero parecchi mesi non altrimenti che le rane normali tenute in cattività.

Anche per questi fatti ora enunciati, è certamente interessante conoscere la costituzione morfologica del sangue e degli organi emopoietici della rana salata.

II. – Tecnica.

Eseguii i miei esperimenti su 36 rane *(Rana esculenta)*, di cui 24 vennero salate, 6 vennero rese anemiche con salassi dalla vena addominale, ripetuti a distanza di tempo, e altre 6 vennero tenute di controllo. Dodici delle rane salate vennero uccise nei primi 15 giorni dalla perfusione. Gli altri animali, digiunanti e sottoposti periodicamente ad esami del sangue (strisci e conteggi), vennero uccisi dopo intervalli di tempo diversi dalla perfusione o dai salassi; da essi furono prelevati pezzi dei vari organi e tessuti per l'esame istologico.

Come liquido di perfusione per la salatura adoperai il liquido di Ringer-Locke per mammifero, diluito con mezzo volume di acqua distillata per renderlo isotonico al sangue di rana.

Per eseguire la perfusione seguivo la tecnica indicata da GAYDA (1). Fissavo cioè l'animale in posizione supina su una tavoletta di sughero ed eseguito un taglio della pelle lungo la linea mediana ventrale, mettevo allo scoperto la vena addominale. Per far questo incidevo cautamente il foglietto ventrale e quello dorsale della guaina del muscolo retto sinistro dell'addome, parallelamente alla linea alba e in immediata vicinanza di questa; il foglietto ventrale più resistente veniva sezionato con un coltellino foggiato a falce, col tagliente rivolto in fuori, e dissecando quindi di dentro in fuori; il foglietto dorsale, molto più sottile, era diviso per dilacerazione con un minuscolo specillo. Mettevo in questo modo allo scoperto un tratto abbastanza lungo della vena addominale, senza lederla affatto e senza aprire la cavità pleuro-peritoneale. Con un ago ricurvo facevo poi passare un'ansa di filo di seta al di sotto della vena, in modo che l'ansa abbracciasse anche parte dei tessuti circostanti alla vena.

Praticata quindi una piccola incisione nella parete della vena, introducevo nel lume di questa, verso il cuore, una sottile cannula di vetro, che veniva fissata nella vena stessa annodando l'ansa del filo di seta. Congiungevo la cannula mediante un tubo di gomma ad un serbatoio contenente il liquido di Ringer-Locke per rana ed eseguivo la perfusione sotto una pressione di circa 20 cm di acqua. Il liquido penetrava nel moncone centrale della vena addominale, e dopo avere circolato attraverso il corpo della rana, usciva liberamente dal moncone periferico della vena stessa, che recidevo ampiamente per facilitare il deflusso del liquido. Continuavo la perfusione fino a che il liquido defluiva incoloro. Finita la perfusione legavo i due monconi della vena addominale e suturavo separatamente i muscoli e la cute.

Prima della perfusione determinai sempre nella rana il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina ed eseguii strisci di sangue. Il sangue per gli strisci e conteggi e per il dosaggio della emoglobina era ottenuto tagliando uno o due dita della zampa della rana. Per impedire che il sangue coagulasse mettevo sulla ferita qualche cristallino di ossalato di potassio. Allorchè uccidevo la rana, prendevo il sangue direttamente dai grossi vasi.

Eseguii il conteggio dei corpuscoli del sangue coll'apparecchio di Bürker. Secondo lo stato di diluizione del sangue, il campione di sangue veniva adoperato senz'altro per il conteggio oppure veniva diluito prima convenientemente con soluzione di cloruro sodico al 3 % mediante le solite pipette. La determinazione della quantità di emoglobina venne fatta coll'apparecchio di Fleisch modificato da Miescher. Gli strisci di sangue e di organi vennero colorati col May-Grünwald-Giemsa. Le sezioni degli organi, che erano stati fissati in alcool o in una soluzione alcoolica di sublimato e inclusi in paraffina, vennero colorati con i comuni metodi di colorazione e col Giemsa. Determinai inoltre, sugli strisci di sangue, anche la formula eritrocitaria, secondo il metodo statistico. Per stabilire infine se gli eritrociti circolanti subito dopo la perfusione erano preesistenti nel sangue oppure provenivano dai loro luoghi d'origine, eseguii su di essi la colorazione sopravitale con Brillantkresilblau, secondo la tecnica indicata da Ferrata (2). Dal numero percentuale di eritrociti con sostanza granulo-filamentosa, si possono in questo caso facilmente distinguere gli eritrociti circolanti da quelli neoformati.

III. – Risultati sperimentali.

Nella rana salata constatai sempre profonde modificazioni della costituzione del sangue e degli organi emopoietici. Tali modificazioni furono però diverse, a seconda della distanza di tempo dalla perfusione. Ciò risulta dai reperti all'autopsia, dalle determinazioni del numero degli eritrociti e della quantità di emoglobina e dall'esame morfologico del sangue e degli organi emopoietici delle rane salate e di controllo.

1) – Osservazioni all'autopsia delle rane salate.

Riporto brevemente i protocolli delle autopsie delle rane salate uccise a varia distanza di tempo dalla perfusione:

Prot. 1. — 16 gennaio 1929. - Autopsia delle rane I, II e III.

La perfusione fu eseguita il 16 gennaio 1929 e l'autopsia subito dopo la fine dell'esperimento. In tutti e tre gli animali i reperti sono identici e sono caratterizzati sopratutto da un estremo grado di anemia e da un' imponente anasarca.

Cute, tesa, lucente, con pigmentazione normale.

Tessuto connettivo sottocutaneo, fortemente edematoso.

Tessuto muscolare, di colorito bianco-grigiastro, splendente; presenta un edema imponente. Anche alla sezione i muscoli appaiono privi di pigmento ematico, notevolmente imbibiti ed aumentati di volume.

Cavità pleuro-peritoneale, contiene una piccola quantità di liquido chiaro-trasparente.

Organi circolatori: cuore, di volume ingrandito in toto, pallidissimo. Durante la vivisezione della rana, si contrae validamente, ma non presenta alcuna variazione di colore durante le fasi della rivoluzione cardiaca.

Alla sezione, le cavità cardiache si presentano fortemente dilatate, ripiene di un liquido chiaro e trasparente. Miocardio consistente.

Pericardio: nel cavo pericardico è contenuta una notevole quantità di liquido chiaro e limpido.

Organi respiratori: Polmoni, retratti, di color bianco-cereo.

Addome: fegato, di volume ingrandito, di color bianco-grigiastro o bianco-giallastro, Alla sezione, parenchima molle, flaccido e pallidissimo.

Colecisti ingrandita, contenente liquido povero di pigmenti biliari.

Milza: subito dopo la perfusione, la milza è notevolmente ingrandita, di consistenza dura, di colore rosso vivacissimo, che contrasta col pallore estremo e generale degli altri organi e tessuti. La sezione rivela che la polpa splenica è ancora ricca di pigmento ematico.

Stomaco e intestino, di colore bianchissimo. Nella cavità dello stomaco e nel lume intestinale è contenuta scarsa quantità di liquido mucoso filante. L' intestino tenue è macroscopicamente privo di pigmenti biliari.

Pancreas, organi genitali, nulla di notevole.

Reni, ingranditi di volume.

Vescica, enormemente dilatata e ripiena di liquido incolore e trasparente

Arti inferiori, edematosi.

Sistema nervoso, Nulla di notevole alla osservazione macroscopica.

Prot. 2. — 20 gennaio 1929. - Autopsia delle rane IV, V e VI, la cui perfusione fu eseguita rispettivamente il 17, 18 e 19 gennaio. L' edema da perfusione nella rana V e VI è notevolmente minore che nelle rane esaminate subito dopo la perfusione e nella rana IV è quasi scomparso.

L' esame dei vari organi e tessuti delle rane IV, V e VI dà reperti pressochè uguali a quelli osservati nelle rane I, II e III, esaminati subito dopo la perfusione. Il reperto differisce, oltre che per la minore intensità dell' edema, per il particolare aspetto della milza. In questi tre casi *la milza* infatti appare di volume normale, di colorito pallido, bruno-grigiastro, di consistenza molle. Anche alla sezione il parenchima splenico appare povero di pigmento ematico

Prot. 3. — 5 febbraio 1929. - Autopsia delle rane VII, VIII, IX, la cui perfusione fu eseguita il 21 gennaio 1929.

Prot. 4. — 21 febbraio 1929, - Autopsia delle rane X, XI e XII la cui perfusione fu eseguita il 22 gennaio 1929.

In tutti questi casi la vivisezione rivelò costantemente alcune differenze dai reperti precedenti. Esse si possono brevemente riassumere nella completa scomparsa dell' edema da perfusione e dei versamenti cavitari. Inoltre:

Il cuore ha riacquistato il suo volume normale; le cavità contengono ancora liquido chiaro, trasparente e macroscopicamente privo di emoglobina;

La milza è notevolmente ingrandita, di colorito rosa chiaro;

Il midollo osseo riempie tutta la cavità midollare, diafisaria ed epifisaria, delle ossa lunghe.

Prot. 5. — 15 marzo 1929-19 luglio 1929. - Rane XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XXIV. Queste rane, la cui perfusione fu eseguita nel periodo intercorrente tra il 28 gennaio 1929 e il 9 febbraio 1929, furono uccise a varia distanza di tempo, nel periodo intercorrente dal 15 marzo al 15 luglio, Su di esse determinai il numero degli eritrociti, la quantità di emoglobina e la formula eritrocitaria, riportati nella Tab. I.

All'esame degli organi e dei tessuti si constatarono scarse variazioni da un caso all'altro. In generale si osservò che lo stato di nutrizione delle rane salate da alcuni mesi è più scadente che negli animali controllo.

Il tessuto connettivo sottocutaneo è scarso.

I muscoli, sono ipotrofici e pallidissimi.

Il sangue, dopo parecchi mesi dalla perfusione non sembra abbia subito alcuna variazione dell'aspetto e permane incoloro, chiaro e trasparente; in qualche caso esso assume tuttavia una tinta debolmente rosea e tale colorazione è presente allora anche nei tessuti.

Il fegato, di volume normale o appena ingrandito, ha un colorito grigio-brunastro.

La milza, ancora notevolmente ingrandita, ha sempre una colorazione vivacissimamente rossa.

L'esame degli organi e tessuti delle rane salate dimostrarono nel loro complesso che le modificazioni che intervengono nella costituzione del sangue e degli organi ematopoietici dopo la perfusione sono caratterizzate dal fatto:

a) che il sangue della rana salata è e si mantiene lungamente incoloro e trasparente od appena opalescente. Solo a lunga distanza di tempo dalla perfusione si verifica talvolta una debole tinta rosea del liquido circolante;

b) che l'aspetto pallidissimo di tutti gli organi e tessuti contrasta con quello degli organi ematopoietici e specialmente della milza. Questo organo si comporta in modo particolare perchè, a differenza degli altri, non viene privato del pigmento sanguigno dalla prolungata perfusione. Subito dopo questa, la milza conserva il suo colore rosso, il quale impallidisce soltanto nei giorni seguenti all'intervento. A lunga distanza di tempo dalla perfusione però la milza riacquista un colore vivacemente rosso ed ingrandisce notevolmente di volume.

2) – Determinazioni del numero degli eritrociti, della quantità di emoglobina e della formula eritrocitaria del sangue della rana salata.

I risultati, ottenuti dalle determinazioni del numero degli eritrociti, della quantità di emoglobina e della formula eritrocitaria del sangue delle rane salate, sono riportati nella tabella I.

TABELLA I.

Numero degli eritrociti, quantità di emoglobina e formula eritrocitaria del sangue della rana salata.

Numero e sesso della rana	Data 1929	Condizione della rana	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Formula eritrocitaria			
						Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti maturi %
XIII ♂	24-I	normale	—	408.000	9,05	—	—	—	100
	28-I	salata	4	8.400	indosabile	—	—	6	94
	28-III	„	63	37.500	„	2	13	47	38
	24-V	„	120	62.100	„	—	—	61	39
XIV ♀	24-I	normale	—	415.000	9,61	—	—	—	100
	3-II	salata	9	12.600	indosabile	—	—	12	88
	28-III	„	62	29.800	„	3	7	71	19
	24-V	„	119	56.200	„	—	—	65	35
XV ♂	5-II	normale	—	404.100	11,10	—	—	—	100
	15-II	salata	10	11.400	indosabile	—	—	9	91
	1-IV	„	54	24.700	„	1	3	48	48
	6-V	„	90	39.300	„	2	8	62	28
	6-VI	„	121	61.900	„	—	—	56	44
XVI ♂	24-I	normale	—	364.000	11,00	—	—	—	100
	25-I	salata	1	3.400	indosabile	—	—	—	100
	6-II	„	13	8.100	„	—	—	13	87
	6-III	„	41	18.400	„	1	5	41	53
	6-V	„	102	50.300	„	—	—	52	48
XVII ♀	25-I	normale	—	422.600	8,95	—	—	—	100
	26-I	salata	1	3.100	indosabile	—	—	—	100
	25-IV	„	90	23.700	„	8	25	56	11
	20-V	„	115	26.900	„	7	28	61	4
	20-VI	„	146	49.600	„	—	10	46	44

Numero e sesso della rana	Data 1929	Condizione della rana	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm³ di sangue g	Formula eritrocitaria			
						Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti maturi %
XVIII ♀	7-II	normale	—	328.000	9,50	—	—	—	100
	8-II	salata	1	6.500	indosabile	—	—	—	100
	8-III	„	29	25.000	„	2	14	61	13
	22-IV	„	74	28.200	„	3	16	59	12
	8-V	„	90	53.100	„	1	6	55	38
	10-VI	„	123	56.300	„	—	5	58	37
	28-VI	„	141	58.400	„	—	3	51	46
	8-VII	„	151	63.900	„	—	—	48	52
	15-VII	„	158	66.600	„	—	—	45	55
XIX ♀	28-I	normale	—	406.000	10,70	—	—	—	100
	29-I	salata	1	6.400	indosabile	—	—	—	100
	1-II	„	4	9.800	„	—	—	16	84
	18-II	„	21	11.500	„	—	1	19	80
	20-III	„	51	31.900	„	2	9	52	37
XX ♀	29-I	normale	—	356.400	9,37	—	—	—	100
	29-I	salata	—	4.800	indosabile	—	—	—	100
	10-II	„	12	8.300	„	—	—	23	77
	10-IV	„	71	42.000	„	—	3	61	36
	29-V	„	120	50.400	„	—	—	45	55
XXI ♂	1-II	normale	—	342.000	11,16	—	—	—	100
	1-II	salata	—	4.100	indosabile	—	—	—	100
	10-II	„	9	12.200	„	—	—	28	72
	15-III	„	42	17.500	„	1	18	51	30
	20-V	„	108	58.300	„	—	—	36	64

Numero e sesso della rana	Data 1929	Condizione della rana	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Formula eritrocitaria			
						Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti maturi %
XXII ♀	4-II	normale	—	370.000	10,60	—	—	—	100
	15-II	salata	11	19.500	indosabile	—	—	21	79
	5-IV	„	59	21.500	„	2	34	45	19
	7-VI	„	123	66.200	„	—	1	48	61
XXIII ♀	4-II	normale	—	428 300	11,69	—	—	—	100
	15-II	salata	11	15.500	indosabile	—	—	39	61
	5-IV	„	59	21.700	„	2	11	70	17
	7-VI	„	123	54.300	„	—	—	55	45
XXIV ♂	9-II	normale	—	330.400	11,13	—	—	—	100
	19-II	salata	10	8.500	indosabile	—	—	15	85
	19-V	„	99	24.800	„	1	3	65	31
	15-VI	„	126	26.000	„	8	11	69	12
	19-VII	„	160	72.000	„	—	—	41	59

Dall' esame di questa tabella risulta che, mentre nella rana normale il numero degli eritrociti è in media, circa 400000 per mm^3 di sangue, nella rana salata, 24 ore dopo la perfusione, è estremamente ridotto (3000-6000 eritrociti per mm^3 di sangue).

Nello spazio di tre o quattro giorni dalla perfusione si ha un aumento del numero degli eritrociti fino a 8-10000 per mm^3 di sangue, numero che ha tendenza in seguito a rimanere costante per lungo tempo. Solo alla distanza di qualche mese dalla perfusione si riscontra un ulteriore graduale aumento nel numero dei globuli rossi fino a 40-70000 per mm^3 di sangue. Questi risultati furono ottenuti anche da GAYDA. Ad essi posso aggiungere che la quantità di emoglobina, che nella rana normale è, in media, di 9-11 g per 100 cm^3 di sangue, nella rana salata si mantiene indosabile, coi comuni metodi colorimetrici, per lungo tempo dopo la perfusione.

Il sangue della rana salata è infatti quasi sempre incoloro e trasparente, talvolta biancastro ed opalescente. Solo dopo qualche mese dalla salatura, nell'animale pur digiunante, si constata, talvolta, una debole tinta rosea del sangue. Anche in questi casi la quantità di emoglobina contenuta nel sangue è sempre piccolissima e non dosabile.

3) – Osservazioni sulla costituzione morfologica del sangue e degli organi emopoietici della rana salata.

a) Sangue periferico.

L' esame degli strisci di sangue della rana salata nelle prime ore dopo la perfusione fa rilevare anzitutto, oltre una estrema diminuzione del numero degli eritrociti, una piastrinosi ed una leucocitosi imponente, a carico specialmente dei leucociti polimorfonucleati. Questi sono rappresentati da elementi di costituzione normale e da leucociti che, per anisocitosi, sono piccolissimi (microleucociti) o di grandezza notevolmente superiore alla norma. Questi elementi differiscono da quelli normali anche per una leggera basofilia del protoplasma, più evidente nelle cellule più voluminose.

Gli scarsi globuli rossi sono costituiti invece da elementi apparentemente normali e morfologicamente maturi, in massima parte provvisti tuttavia di sostanza granulo-filamentosa, dimostrata dalla colorazione col Brillantkresilblau.

Nei giorni successivi alla perfusione la piastrinosi, la leucocitosi e la anisocitosi dei polimorfonucleati vanno gradualmente scomparendo, mentre intervengono invece notevoli variazioni tra gli elementi della serie rossa.

Infatti, a differenza che nelle prime ore dopo la perfusione, si osservano nel sangue circolante globuli rossi con nucleo a struttura eritroblastica e con protoplasma policromatofilo o interamente basofilo.

Questi elementi, di forma elittica, aumentano di numero nel sangue circolante, come dimostra la formula eritrocitaria, quanto più ci si allontana dal giorno della perfusione, fintantochè compaiono poi nel sangue anche elementi tondeggianti, a protoplasma basofilo, che hanno una sorprendente rassomiglianza di struttura colle cellule profondamente immature della serie eritrocitaria dell' uomo.

Esse differiscono, solo talvolta, dalle forme umane per le caratteristiche intaccature e screpolature, nella massa cromatinica, del nucleo eritroblastico, le quali sembrano più evidenti e, per così dire più schematiche, nel nucleo degli eritroblasti di rana che in quelli dell'uomo. Tale struttura nucleare è caratteristica ed inconfondibile. Alcune cellule sono nucleate e, per la loro struttura, non differiscono affatto dai proeritroblasti dell' uomo.

L'esame della letteratura dell'argomento mi dimostrò che le conoscenze degli AA. sulla serie eritrocitaria della rana sono ancora incerte.

Alder e Huber (3), che hanno sintetizzato recentemente le osservazioni proprie e quelle degli Autori sulla ematologia comparata del sangue degli anfibi e dei rettili, dànno tuttavia un quadro incompleto della serie emoglobinica della rana adulta. Ciò risulta anche dalle tavole del lavoro di Alder e Huber (Fig. 26-28 e 29 della tav. II) dove tra gli elementi della serie rossa della rana, sono riportate anche cellule che hanno caratteri morfologici diversi da quelli oggi universalmente riconosciuti alla struttura di tutte le cellule emoglobiniche. Non mi sembra perciò inopportuno descrivere brevemente la fine costituzione morfologica delle cellule della serie eritrocitaria della rana salata in alcuni stadi della loro maturazione. Ciò è giustificato anche dalla osservazione di alcuni interessanti particolari da me riscontrati nella loro struttura.

Proeritroblasto di rana (Tav. II, fig. 1). - È cellula tondeggiante con nucleo centrale e protoplasma omogeneo, addensato ed intensamente basofilo per fenomeno paradosso, la quale non sembra differire da quella della scala genetica eritrocitaria dell' uomo. Il nucleo, fornito di nucleoli, ha struttura emocitoblastica. Nella continuità del reticolo cromatinico si notano talvolta alcune intaccature e screpolature.

Eritroblasto basofilo (Tav. II, fig. 2, 3, 4, 5, 6). - Nella rana gli eritroblasti basofili hanno forma tondeggiante o forma ovoidale, secondo il grado della loro maturazione, Tra l' una e l' altra forma esistono numerose forme intermedie di passaggio. In tutte, la ba-

sofilia del protoplasma è ancora molto intensa per fenomeno paradosso. Il nucleo di solito è sprovvisto di nucleoli mentre la cromatina, a differenza della forma precedente, si dispone a maglia grossolana in modo assai caratteristico, a blocchetti irregolari, così che la intera massa nucleare appare come intaccata e sconnessa da screpolature, il cui fondo è costituito da sostanza acidofila colorata in rosa.

Quest' ultimo particolare della costituzione morfologica dell' eritroblasto basofilo della rana merita rilievo perchè, talvolta, nei preparati colorati col May-Grünwald-Giemsa, si osserva anche un delicato alone perinucleare acidofilo, che si continua colla detta sostanza acidofila endonucleare.

Eritroblasto policromatofilo (Tav. II, fig. 7, 8, 9, 12). – La colorazione policromatofila ha caratteri uguali a quella degli elementi analoghi degli animali superiori. L' eritroblasto policromatofilo ha sempre forma ovoidale e può conservare talvolta il piccolo alone acidofilo perinucleare sopra descritto. In questa cellula è quasi sempre modificato il rapporto tra la grandezza del nucleo e quella del protoplasma, che è relativamente più abbondante che nella forma precedente.

Eritroblasto ortocromatico. – La cellula ha una colorazione omogenea acidofila del protoplasma, ed il nucleo conserva la sua struttura eritroblastica.

Eritrocito maturo (Tav. II fig. 12). – Il nucleo compatto non lascia intravedere sostanza acidofila tra le maglie della cromatina. Il protoplasma è omogeneamente e intensamente acidofilo.

Le forme profondamente immature della serie eritrocitaria sono numerosissime nel sangue circolante e disposte, talvolta, a formare nidi eritroblastici, come nei tessuti ematopoietici o nel sangue durante lo sviluppo ontogenetico (v. Fig. 1). Tanto le cellule mature quanto quelle immature del sangue della rana salata presentano inoltre un' intensa proliferazione, rispettivamente, per amitosi (Tav. II, fig. 11, 13) o per cariocinesi.

Le ulteriori modificazioni che intervengono nel sangue della rana salata sono essenzialmente caratterizzate:

a) dalla comparsa in circolo di nuove cellule abnormi;

b) dalla particolare cromofilia di alcuni elementi;

c) da caratteri degenerativi che si osservano tra gli elementi della serie rossa (anisocitosi, poichilocitosi).

Le cellule abnormi osservate nel sangue della rana salata appartengono sia alla serie bianca che alla serie rossa. Tra le prime sono da ricordare alcune di forma varia, tondeggiante od irregolar-

mente ovale, dal protoplasma a tinta debolmente basofila, ampio, spesso vacuolizzato e privo di granulazioni. Il nucleo è ovoidale, con cromatina a reticolo sottile disposta a gomitolo, con uno o più nucleoli basofili. La struttura di questi elementi è quella delle cellule tipicamente endoteliali degli animali superiori. Questi elementi si riscontrano nella proporzione del 2-5% nelle formule leucocitarie e spesso sono in cariocinesi. Altri elementi, di forma varia, per lo più allungata, con nucleo grande, granuloso, a tinta rossa e con protoplasma tenuemente basofilo, si devono considerare, con tutta probabilità, come cellule d'origine istioide. Tra gli elementi della serie rossa compaiono invece nuove cellule tondeggianti, a protoplasma intensamente basofilo, con fenomeno paradosso, che differi-

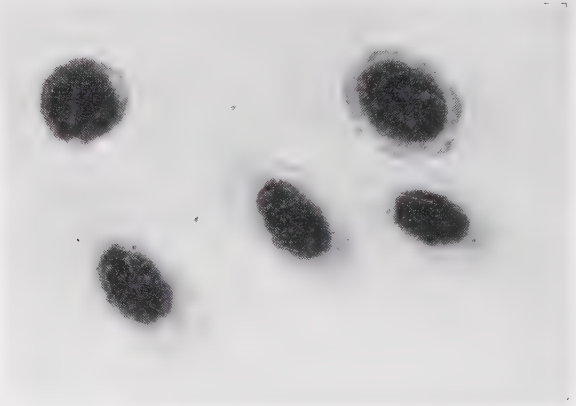


Fig. 1. - Microfotografia eseguita su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa. Nido eritroblastico con gli stadi di evoluzione dal proeritroblasto, tondeggiante, all'eritrocito maturo, ovoidale. Il protoplasma è sempre estremamente povero di emoglobina.

scono dal proeritroblasto o dall'eritroblasto prima descritti sia per il loro protoplasma notevolmente più ampio, sia per la loro costituzione nucleare. Alcune hanno il nucleo tondo, ampio, con reticolo cromatinico a piccola spugna, provvisto di nucleoli basofili, altre hanno la cromatina disposta in blocchi granulari minutissimi che rendono tutto il nucleo d'aspetto zigrinato, con piccole intaccature e screpolature della massa nucleare (Tav. II, fig. 13). Si osserva pure anche in questi elementi sostanza acidofila endonucleare, nello sfondo della maglia cromatinica, e, talvolta, un tenue alone acidofilo perinucleare. La struttura delle cellule ora descritte, allo stesso modo che gli eritroblasti, ha una sorprendente rassomiglianza con

quella dei megaloblasti dello sviluppo ontogenetico dell'uomo (1); che si tratti sicuramente di megaloblasti circolanti ho potuto convincermi, osservando la struttura delle cellule emoglobiniche nel girino di rana nelle prime fasi di sviluppo ontogenetico, allorquando cioè esse sono rappresentate soltanto da cellule della serie megaloblastica. A questo proposito eseguii semplicemente degli strisci dell'intero girino di rana nei primi giorni dopo la sua uscita dall'involucro gelatinoso, da cui prima era avvolto, e molte di queste cellule non differiscono anzi, nella loro struttura, da quelle osservate nel sangue della rana salata.

In questo animale tali elementi non sono mai molto numerosi così che in esso prevale sempre la eritropoiesi normoeritroblastica su quella megaloblastica.

Un altro fatto interessante, tra quelli da me osservati, è che molti elementi maturi del sangue della rana salata, trascorso un certo tempo dall'intervento, non assumono in modo normale la colorazione col May-Grünwald-Giemsa e restano, per così dire, ipocromici. Il loro protoplasma cioè ha un colore grigio-azzurro rosato notevolmente diverso dalla normale colorazione acidofila degli eritrociti normali e da quella basofila e policromatofila degli elementi immaturi (Tav. II, fig. 13). Questo reperto fu constatato con grande evidenza in quasi tutti gli animali sottoposti alla perfusione e non si è mai verificato negli animali di controllo. Dovendo naturalmente escludere, per la struttura nucleare e per la forma differenziata delle cellule in questione, che si tratti di elementi immaturi, si può pensare che la particolare colorazione del loro protoplasma possa dipendere dalla minor quantità di emoglobina in esso contenuta. Per accertare questo fatto ho eseguito su questi elementi, con la tecnica da me altrove indicata (5), le reazioni perossidasiche dell'emoglobina. Ho così constatato che il protoplasma dà una tenue reazione perossidasica che manca nel nucleo. Questo fatto confermerebbe l'ipotesi che si tratti di globuli rossi maturi, ma estremamente poveri di pigmento emoglobinico.

Tra gli elementi della serie rossa constatai infine, talvolta, un intensissimo processo di anisocitosi e poichilocitosi, sia tra le forme mature che tra quelle immature (Tav. II, fig. 14), il quale viene a turbare profondamente la rigenerazione del sangue della rana salata.

---

(1) Essa è simile anche a quella dei megaloblasti che la Stolz (4) ha constatato nel sangue della carpa profondamente anemizzata.

Un quadro complessivo delle modificazioni nella serie rossa del sangue nella rana salata risulta dalla formula eritrocitaria, eseguita a varia distanza di tempo dalla perfusione e riportata nella Tab. I. Dall' esame di essa si constata che le forme mature, allo inizio vanno diminuendo e quelle immature gradualmente aumentando fino ad un valore massimo. Solo dopo lungo tempo dall' intervento si verifica una lenta diminuzione delle forme immature ed un aumento di quelle mature. L' aumento delle forme immature si verifica in modo diverso secondo il grado della loro maturazione. La comparsa delle cellule profondamente immature nel sangue circolante avviene dopo quella delle cellule meno immature, e la diminuzione delle prime avviene prima della diminuzione delle seconde. Dall' esame della formula eritrocitaria si rivela inoltre, che in nessuna delle rane salate si verificò il ritorno alla normale costituzione morfologica del sangne.

b) Organi ematopoietici.

1. *Midollo osseo.* — Per effetto della perfusione, eccettuato il periodo in cui si ha l'edema, si determinano all'inizio nella costituzione del midollo osseo lievi alterazioni. Subito dopo la perfusione esso differisce dal midollo osseo della rana normale per la mancanza pressochè completa, tanto negli strisci quanto nelle sezioni, degli eritrociti. Questi furono asportati dal liquido di perfusione o immessi nel circolo nel periodo susseguente alla perfusione. Il tessuto grassoso prevale sul tessuto ematogeno, e tra gli elementi costitutivi di esso anche le forme immature della serie rossa sono scarsissime e limitate a qualche eritroblasto policromatofilo. Non si riscontrano quindi in prevalenza che elementi della serie bianca, quasi tutti maturi, e scarse cellule del connettivo e del sistema reticolo-endoteliale. Tutto il tessuto mieloide subito dopo la perfusione conserva cioè la costituzione del midollo osseo, in stato di riposo funzionale, della rana durante la stagione invernale. Alla distanza di qualche giorno dalla perfusione, l' esame del midollo osseo rivela una maggior ricchezza di elementi cellulari, qualche cellula in mitosi, un aumento di eritroblasti nel parenchima e nei vasi. Si ha cioè un risveglio dell' attività ematopoietica di tutto il tessuto mieloide, ma particolarmente numerose sono le cellule che Jordan (6) descrisse come mielociti e promielociti del midollo della rana. Fatti più interessanti si osservano a lunga distanza di tempo dalla perfusione, poichè a poco a poco si va stabilendo uno straordinario aumento di tutti gli elementi cellulari costitutivi del midollo, i quali

si mantengono in attivissima proliferazione, cosicchè tutto il tessuto ematogeno prevale sul tessuto grassoso. Ma la iperplasia che predomina in modo assoluto è quella degli elementi appartenenti alla serie eritroblastica ed al sistema reticolo-endoteliale (Tav. I fig. 1), così che in molte zone midollari il tessuto è costituito quasi esclusivamente da cellule della serie eritrocitaria e da elementi reticolo-endoteliali (v. Fig. 2). Le forme profondamente immature della serie rossa (proeritroblasti, eritrobtasti basofili) sono numerosissime e disposte, come già nel sangue periferico, a formare nidi eritroblastici. Tra gli elementi del tessuto mieloide si notano poi particolari cellule voluminose, con protoplasma leggermente basofilo, quasi sempre privo di granuli e talvolta con evidenti fenomeni di clasmatosi. Questi elementi, provvisti di un nucleo, dalla struttura cromatinica

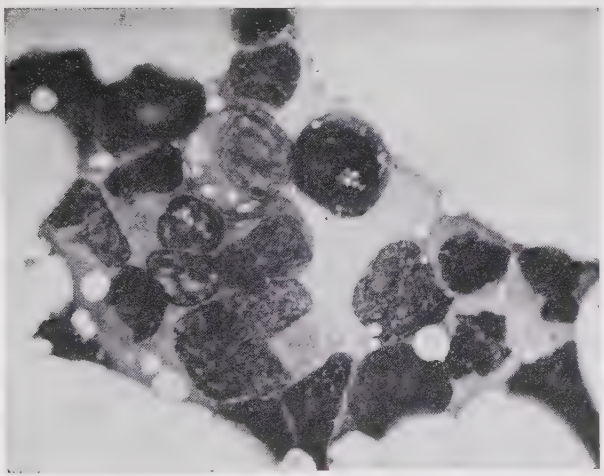


Fig. 2. - Microfotografia eseguita su striscio di midollo osseo di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa. Iperplasia del tessuto eritroblastico e reticolo-endoteliale.

tipicamente spugnosa, si debbono considerare, per i loro caratteri morfologici, cellule emoistioblastiche del midollo osseo della rana. La costituzione morfologica del midollo osseo della rana ripete in genere il quadro morfologico del sangue periferico, caratterizzato essenzialmente dagli imponenti fenomeni di iperplasia delle cellule eritroblastiche e dalla inibizione della loro evoluzione. Cellule profondamente immature della serie megaloblastica, furono poi osservate, oltrechè nel sangue, anche negli strisci del midollo osseo della rana salata (Tav. I, fig. 1). In seguito va diminuendo il numero

delle forme immature circolanti, diminuisce pure anche la iperplasia eritroblastica mieloide, senza che però mai si raggiunga, nella rana salata e digiunante, la costituzione morfologica del midollo osseo normale.

2. *Milza.* — La milza della rana salata presenta pure grandi variazioni dalla sua costituzione. L'esame istologico subito dopo la perfusione dimostra che essa, a differenza degli altri organi, contiene nei vasi e nei seni venosi della polpa, o sparsi nel parenchima, numerosissimi globuli rossi. Questo reperto illustra il singolare comportamento dell'organo, che subito dopo la perfusione, a differenza di tutti gli altri tessuti appare vivacemente rosso. Ciò è dovuto evidentemente al fatto che durante la perfusione dell'intero organismo della rana, la milza trattiene nei suoi vasi un certo numero di corpuscoli rossi del sangue. L'esame della milza eseguito alla distanza di 3-10 giorni dalla perfusione, dimostra che i corpuscoli rossi del sangue, che prima riempivano i suoi vasi e seni venosi, sono in gran parte scomparsi. La milza acquista una struttura apparentemente più omogenea di quella normale. Gli elementi del parenchima splenico sono cioè costituiti da elementi linfocitari, piccoli, con scarso protoplasma e nucleo colorato in azzurro-viola, da numerose cellule mononucleate con nucleo grande e protoplasma ampio, da leucociti polimorfonucleati, da cellule del reticolo, spesso difficilmente dimostrabili con certezza, da cellule endoteliali e da qualche rara cellula pigmentifera con granuli bruno-nerastri. Sono quasi mancanti, come si è detto sopra, le cellule rosse del sangue; solo qualche eritrocita, spesso in disfacimento, si osserva nei vasi o sparso nel parenchima. Anche questo reperto istologico riflette esattamente il fatto, precedentemente ricordato, che qualche giorno dopo la salatura della rana la milza ha un colorito non più rosso, ma soltanto rosa pallido. L'esame istologico della milza a lunga distanza di tempo dalla perfusione (v. fig. 3), quando essa ha di nuovo assunto una colorazione vivacemente rossa ed è ingrandita di volume, rivela, allo stesso modo che nel midollo osseo, una imponente e prevalente iperplasia delle forme profondamente immature del tessuto eritroblastico (Tav. I, fig. 2). In conclusione, durante la perfusione la milza della rana salata sembra trattenere un certo numero di globuli rossi nei seni e vasi venosi del suo parenchima, si priva di essi nei giorni seguenti alla perfusione ed in seguito partecipa attivamente, come organo eritropoietico, alla rigenerazione del sangue.

3. *Fegato.* — Le modificazioni riguardanti il fegato come organo ematopoietico sono notevoli solo dopo lungo tempo dalla perfusione e sono caratterizzate da una evidente iperplasia del sistema

reticolo-endoteliale e dalla presenza di qualche focolaio di elementi eritroblastici. Negli strisci di fegato si osservano particolarmente numerose le forme immature eritrocitarie. Queste, come appare dai preparati per sezione, si trovano a riempire i grandi vasi del fegato

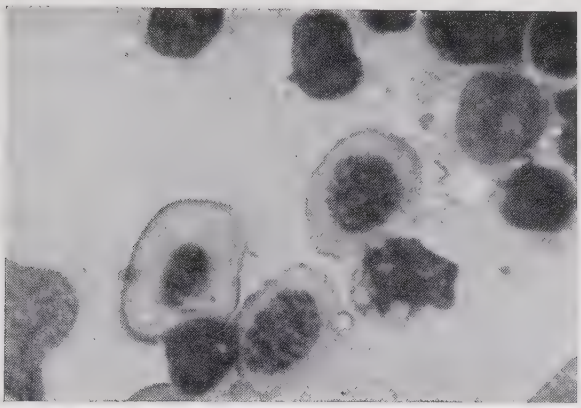


Fig. 3. – Microfotografia eseguita su striscio di milza di rana salata, colorato con May-Gründwald-Giemsa. Iperplasia del tessuto eritroblastico.

in maggior numero che non in altri organi. Notevole è pure l'attività granulocitica eosinofila del sistema reticolo-endoteliale del fegato stesso.

4) - Osservazioni sulla costituzione del sangue e degli organi ematopoietici delle rane anemizzate con salassi e di quelle normali di controllo.

Contemporaneamente agli esami sulle rane salate determinai il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina e la formula eritrocitaria nelle rane anemizzate con salassi e in quelle normali di controllo. I risultati di questi esami sono riportati, rispettivamente, nella Tabella 2ª e nella Tabella 3ª.

I dati raccolti nella Tabella 2ª dimostrano che mentre nella rana salata il numero degli eritrociti diminuisce in media da 400 mila a 3000-6000 per mm^3, in seguito alla perfusione, e subisce, poi, solo un lieve aumento, nella rana anemizzata con salassi esso non è mai inferiore ad 80.000 e ha tendenza a ritornare in modo relativamente rapido alla norma. Anche la quantità di emoglobina

TABELLA II.

Numero degli eritrociti, quantità di emoglobina e formula eritrocitaria del sangue delle rane anemizzate con salassi

Numero e sesso dalla rana	Data 1929	Condizione della rana	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Form. eritrocitaria	
					Eritroblasti %	Eritrociti maturi %
I ♂	28-I	normale	416.000	10.63	—	100
	18-II	anemizzata	162.000	7,50	9	91
	10-IV	„	290.000	9,91	—	100
II ♀	28-I	normale	380.000	11,11	—	100
	18-II	anemizzata	110.000	7,69	13	87
	10-IV	„	224.000	10,57	--	100
III ♂	28-I	normale	345.000	8,36	—	100
	18-II	anemizzata	135.000	6,19	10	90
	10-IV	„	322.300	8,48	—	100
IV ♀	28-I	normale	361.600	9,33	—	100
	18-II	anemizzata	82.500	7,50	16	84
	10-IV	„	315.000	8,69	—	100
V ♀	29-I	normale	392.400	10,39	—	100
	18-II	anemizzata	125.500	8,10	10	90
	10-IV	„	340.000	10,51	—	100
VI ♀	29-I	normale	360.800	8.91	—	100
	10-II	anemizzata	145.600	6,88	6	94
	10-IV	„	353.000	9,14	—	109

TABELLA III.

Numero degli eritrociti, quantità di emoglobina e formula eritrocitaria del sangue delle rane normali di controllo

Numero e sesso della rana	Data 1929	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Form. eritrocitaria	
				Eritroblasti %	Eritrociti maturi %
I ♂	24-I	418.000	9,21	—	100
	28-III	403.000	8,67	—	100
	24-IV	413.200	8,16	—	100
II ♀	24-I	404.600	8,55	—	100
	28-III	415.000	9,07	—	100
	24-IV	397.300	8,77	—	100
III ♂	24-I	422.000	9,50	—	100
	28-III	396.720	10,11	—	100
	24-IV	404.500	9,75	—	100
IV ♂	7-II	327.550	8,42	—	100
	8-III	338.000	8,96	—	100
	22-IV	340.000	8,61	—	100
V ♀	7-II	363.900	10,25	—	100
	8-III	371.540	9,91	—	100
	22-IV	348.000	9,85	—	100
VI ♂	7-II	389.500	10,61	—	100
	8-III	362.000	10,25	—	100
	22-IV	375.000	10,03	—	100

che nella rana salata si mantiene per lo più indosabile, nella rana anemizzata con salassi torna, dopo qualche tempo al suo valore normale. La formula eritrocitaria indica che il sangue della rana, in seguito ai salassi, subisce solo lievi modificazioni, ma dopo un certo tempo ritorna perfettamente alla norma.

Dall'esame dei dati contenuti nella Tabella 3ª si rileva che nelle rane normali, tenute di controllo, non si verificano modificazioni degne di nota nella costituzione morfologica della serie rossa nè per effetto del digiuno nè per effetto delle stagioni.

VI. – Interpretazione e discussione dei risultati sperimentali.

Tra i risultati ottenuti è importante rilevare che il grado di anemia nella rana salata è di gran lunga superiore ad ogni altro finora noto sperimentalmente e dura quasi immutato per parecchi mesi dopo la perfusione, senza che l'animale differisca nelle sue manifestazioni vitali dalla rana normale. Il numero degli eritrociti dopo la perfusione, diminuisce da circa 400000 a 3-6000 per mm^3 di sangue e non subisce in seguito che un lieve aumento; la quantità di emoglobina diminuisce da 9-11 g per 100 cm^3 di sangue fino ad essere indosabile, e si mantiene tale per lunghissimo tempo, così che il sangue resta quasi sempre incoloro e trasparente.

In queste condizioni la costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici della rana salata ha rivelato costantemente una enorme iperplasia del tessuto eritroblastico, caratterizzata dalla presenza in circolo di numerosissime forme profondamente immature della serie eritrocitaria (proeritroblasti, eritroblasti basofili con fenomeno paradosso, eritroblasti policromatici) e dalla attivissima proliferazione del sistema eritropoietico nel midollo delle ossa, nella milza, nel fegato e nel rene. Ora, poichè questa imponente iperplasia delle cellule eritroblastiche profondamente immature non è seguita, come si potrebbe supporre, da un corrispondente aumento dei globuli rossi, è necessario ammettere che tali cellule siano incapaci di giungere alla maturazione. Si stabilisce cioè un arresto del loro normale processo citoevolutivo.

Questo caratteristico quadro ematologico fu osservato in casi patologici umani. Di Guglielmo (9-14) ha infatti dimostrato, per il primo, in alcuni casi illustrati dal lato anatomo-patologico e clinico, la esistenza di forme morbose *primitive* del tessuto eritroblastico (eritremie), caratterizzate da reperti istologici ed ematologici, a carico del sistema eritropoietico, analoghi a quelli del sistema leucopoietico

nelle leucemie, da fenomeni cioè di iperplasia del tessuto eritroblastico e da un arresto della maturazione dei suoi costituenti cellulari. Di Guglielmo gettò perciò le basi di una completa ed organica sistemazione nosografica delle malattie primitive del sistema eritropoietico, riconoscendo essenzialmente:

a) forme morbose che hanno come fondamento anatomico una iperplasia primitiva del sistema eritropoietico, iperplasia semplice e disgiunta da processi di anaplasia e incompleta differenziazione degli elementi eritrocitari;

b) forme morbose che hanno come fondamento anatomico una iperplasia primitiva del sistema eritropoietico, iperplasia non semplice, ma associata a processi di anaplasia o di incompleta differenziazione degli elementi eritrocitari (eritremie).

Alla luce di questi fatti messi in evidenza da Di Guglielmo, debbo ritenere di essere riuscito a provocare sperimentalmente nella rana salata uno stato di vera eritremia, *nel senso ematologico della parola.*

Questa interpretazione è giustificata dal fatto:

1) che alla base del processo da me constatato stanno fenomeni di iperplasia delle cellule eritroblastiche e di inibizione della loro evoluzione, fatti fondamentali e perfettamente analoghi a quanto si osserva per le forme della serie bianca nel processo leucemico;

2) che per la serie eritroblastica (come per quella leucoblastica) non le variazioni numeriche hanno importanza per definire il processo, ma sopratutto quelle qualitative (presenza in circolo di forme profondamente situate nella scala genetica eritrocitaria, proeritroblasti, eritroblasti basofili).

A differenza di quanto avviene nella rana anemizzata con salassi, nella quale dopo un certo periodo di tempo il sangue non differisce sia qualitativamente che quantitativamente da quello della rana normale, nella rana salata il sangue, dopo lo stesso periodo di tempo, presenta

a) variazioni quantitative, per spiccatissima eritroblastosi relativa;

b) variazioni degenerative, per anisocitosi e poichilocitosi delle cellule della serie rossa;

c) variazioni qualitative, per presenza di cellule abnormi profondamente immature della serie eritroblastica o megaloblastica e di cellule reticolo-endoteliali,

e non ritorna mai alla sua costituzione normale.

Una iperplasia duratura e permanente del tessuto eritroblastico, analoga a quella da me descritta, fu osservata da Ellerman (15-18)

in seguito alla inoculazione di un virus filtrante nel pollo. Questo intervento determina nell'animale una diminuzione della quantità di emoglobina fino al 20-25 % ed il numero degli eritrociti fino ad un terzo del normale. Nel sangue circolante Ellermann riscontrò un grande numero di forme immature della serie rossa, che raggiungevano talvolta perfino il 90 % delle cellule circolanti, mentre negli organi la iperplasia eritroblastica era diffusa specialmente nel fegato, nella milza, nei reni e nel midollo osseo.

Lo stesso quadro istologico, osservato da Ellermann, e recentemente anche da Battaglia e Leinati (19) e da Storti (20) nel cane, si ripete, in condizioni del tutto diverse, nei miei esperimenti. In questi il fatto più difficile da spiegare è che il sangue, malgrado la iperplasia imponente del tessuto eritroblastico, non ritorna mai, cessato l'intervento, alla sua costituzione normale, a differenza di quanto si verifica in ogni altra anemia sperimentale.

Questo fatto si può spiegare pensando che, dopo l'asportazione di quasi tutta la massa del sangue mediante la perfusione, l'organismo digiunante non è più in grado di compiere la sintesi della emoglobina come in condizioni normali. Infatti l'organismo, non avendo più a disposizione i materiali provenienti dagli alimenti, si trova nella necessità di dover ricostruire interamente la molecola emoglobinica coi materiali provenienti a spese dei propri tessuti. In queste particolari condizioni, la formazione della emoglobina si compie in quantità trascurabile, senza che per ora sia possibile dire se ciò dipenda da incapacità da parte dell'organismo adulto a formare l'emoglobina dalle sostanze più semplici o da mancanza di queste.

La ipotesi da me espressa può spiegare razionalmente:

1) la estrema lentezza dei fenomeni di rigenerazione del sangue, malgrado la imponente iperplasia del tessuto eritroblastico;

2) l'incapacità di molte cellule eritroblastiche a raggiungere una completa maturazione;

3) la piccolissima quantità di emoglobina, quasi sempre indosabile, contenuta nel sangue, incoloro e trasparente, della rana salata.

Nella rigenerazione degli elementi della serie bianca del sangue della rana salata, il reperto più interessante è quello della anisocitosi dei corpuscoli bianchi con microleucocitosi e macroleucocitosi neutrofila. La anisocitosi dei globuli bianchi infatti non è reperto frequente e fu osservata per la prima volta da Di Guglielmo (21) nel sangue dell'uomo in un caso patologico. Di Guglielmo attribuì la causa della anisocitosi neutrofila riscontrata nel suo caso ad una

deviazione della citogenesi mielocitaria normale, e più particolarmente la macroleucocitosi ad assenza di mitosi elassotiche o diminutive di DUSTIN, la microleucocitosi ad un eccesso di queste. Tale ipotesi può essere espressa anche per la interpretazione della anisocitosi dei globuli bianchi da me osservata nella rana salata, allorchè in seguito alla perfusione si verifica una proliferazione rapida e tumultuosa dei globuli bianchi del sangue. Ciò è confermato anche dal fatto che alcuni particolari morfologici da me descritti più sopra nei leucociti del sangue circolante, avvicinano queste forme a quelle che abitualmente si trovano nel midollo delle ossa.

Tra gli organi ematopoietici emerge infine il singolare comportamento della milza nei primi giorni dopo la perfusione. La milza infatti, durante la perfusione, come fu precedentemente osservato, a differenza degli altri organi o tessuti, trattiene nei suoi seni venosi o nel suo parenchima numerosi globuli rossi, che essa cede al sangue nei giorni seguenti all' intervento. Questi fatti indicano chiaramente che la milza, in seguito alla perfusione dell' intero organismo, agisce come organo di riserva dei corpuscoli rossi del sangue, analogamente a quanto è noto in altre condizioni sperimentali.

V. - CONCLUSIONI

Il complesso delle mie ricerche ematologiche sulla rana salata si può riassumere brevemente nei fatti seguenti:

1) È possibile ottenere nella rana salata una anemia, di gran lunga superiore per intensità ad ogni altra finora nota sperimentalmente, la quale dura quasi immutata per parecchi mesi dopo la perfusione, senza che l'animale differisca nelle sue manifestazioni vitali dalla rana normale. A differenza della rana anemizzata con salassi, nella quale il sangue, dopo un certo periodo di tempo dall' intervento, non differisce sia qualitativamente che quantitativamente da quello della rana normale, nella rana salata il sangue non ritorna affatto alla sua costituzione normale.

2) La costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici della rana salata è essenzialmente caratterizzata, per lungo tempo, dalla presenza in circolo di numerosissime forme profondamente immature della serie eritrocitaria (proeritroblasti, eritroblasti basofili con fenomeno paradosso, eritroblasti policromatici), da un processo di attivissima proliferazione del sistema eritropoietico nel midollo delle ossa, nella milza e nel fegato e da un arresto del processo evolutivo delle cellule eritroblastiche. In base a questi

fatti debbo ritenere di essere riuscito a provocare sperimentalmente nella rana salata uno stato di vera eritremia, nel senso ematologico della parola.

3) I fatti osservati si possono spiegare pensando che l'organismo digiunante, in seguito alla perfusione, non è più in grado di compiere la sintesi dell'emoglobina come in condizioni normali. Infatti l'organismo, non avendo più a disposizione i materiali provenienti dagli alimenti, si trova nella necessità di dover ricostruire interamente la molecola emoglobinica a spese dei propri tessuti. In queste condizioni l'emoglobina si forma in quantità trascurabile, senza che per ora sia possibile dire se ciò dipenda da incapacità dell'organismo a sintetizzare l'emoglobina partendo dalle sostanze più semplici o da mancanza di queste.

4) Il singolare comportamento della milza che, durante la perfusione, a differenza degli altri organi o tessuti, trattiene numerosi globuli rossi, che cede poi al sangue nei giorni seguenti all'intervento, indica chiaramente che la milza agisce come organo di riserva dei corpuscoli rossi del sangue, analogamente a quanto è noto in altre condizioni sperimentali.

Nella interpretazione degli strisci del sangue e degli organi ematopoietici ho ricorso, durante le mie ricerche, all'autorevole giudizio del Prof. Di Guglielmo, al quale mi è grato esprimere la mia viva riconoscenza.

Bibliografia.

1. Gayda T. — La produzione di calore in diverse condizioni sperimentali. Nota 2.ª Ricerche sulla rana salata. - Arch. di Scienze Biolog., II, 333, 1921.
2. Ferrata A. — Le emopatie. I, Milano, 1918.
3. Alder A. e Huber E. — Untersuchungen über Blutzellen und Zellbildung bei Amphibien und Reptilien. - Folia Haematologica, XXIX, 1, 1923.
4. Stolz R. — Ematopoiesi normale e sperimentale nel sangue dei pesci. - Haematologica, IX, 1929.
5. Ferrari R. — Sulla formazione della emoglobina nel nucleo degli eritroblasti della rana. - Haematologica, XI, 267, 1930.
6. Jordan — The histology of the blood and the red bone-marrow of the leopard-frog (rana pipiens). - Am. Journ. Anat., XXV, 437, 1919.
7. Bizzozzero — Il Morgagni, 1869.
8. Jolly J. — Récherches expérimentales sur la division indirecte des globules rouges. - Arch. d'Anat. Micr., VI, 465, 1904.

9. Di Guglielmo G. — Un caso di eritroleucemia. - Folia Medica, 1917.
10. Id. — Eritroleucemia e piastrinemia. - Folia medica, 1920.
11. Id. — Eritremia acuta. - Congr. di Med. Int., 1923.
12. Id. — Le eritremie acute. - Boll. della Società Medico Chir. di Pavia, XL, 665, 1926.
13. Id. — Aplasie e iperplasie del tessuto mieloide. - Bollett. della Società Medico Chir. di Pavia, XLII, 131, 1928.
14. Id. — Le eritremie. - Haematologica, IX, 301, 1928.
15. Ellermann — Histogenese der übertragbaren Hühnerleukose. II. Die intravaskuläre lympoide Leukose. - Folia Haemat., XXVI, 3, 1921.
16. Id. — Histogenese der übertragbaren Hühnerleucose. VI, Zusammenfassende Betrachtungen. - Folia Haemat., XXIX, 4, 1923.
17. Id. — The Leucosis of fowls and Leucemia Problems. - Guldendal, London, 1923.
18. Id. — La Leucose transmissible des pouls. - Journal de Phys. et de Path. Génér., 1923.
19. Battaglia F. e Leinati L. — Malattie sistemiche trasmissibili degli organi emopoietici del pollo con ricerche sugli elementi morfologici del sangue normale e loro genesi. - Bollettino dell' Istituto Sieroterapico Milanese, VIII, 1, 1929.
20. Storti E. — Anemia sperimentale da botriocefalo. - Boll. della Società Medico-Chir. di Pavia, XLIV, 445, 1930.
21. Di Guglielmo G. — Anisocitosi, poichilocitosi e amitosi dei polimorfonucleati neutrofili. - Folia Medica, 8, 1924.

Résumé.

L'A. a provoqué chez la grenouille, par la perfusion saline de tout l'organisme,une anémie extrêmement supérieure à toutes celles connues jusqu'à présent, et qui dure, presque sans changements, pendant plusieurs mois. Cette anémie est caractérisée par la présence dans la circulation de très nombreuses formes non mûres de la série érythrocytaire, par une prolifération très active du système érythropoïétique dans la moëlle osseuse, dans la rate et dans le foie, et par un arrêt, à peu près complet, de l'évolution des cellules érithroblastiques.

Selon l'A. tous les faits observés peuvent s'expliquer en pensant que l'organisme à jeun, par suite de la perfusion, n'est plus capable d'assurer la synthèse de l'hémoglobine comme en conditions normales. En effet, l'organisme, privé des matériaux alimentaires, doit construire la molécule hémoglobinique entiérement aux dépens de ses propres tissus. Dans ces conditions l'hémoglobine se forme en quantités negligeables, sans qu'il soit pour le moment possible de dire si cela a lieu par incapacité d'opérer la synthèse en partant des substances les plus simples ou bien par l'absence de ces substances.

Spiegazione delle Tavole.

Tavola I.

Fig. 1. - Striscio di midollo osseo della rana salata. Iperplasia del tessuto eritroblastico e reticolo endoteliale.

„ 2. - Striscio di milza della rana salata. Iperplasia del tessuto eritroblastico.

Tavola II.

Fig. 1-12. - Cellule della serie emoglobinica nel sangue circolante della rana salata.

„ 1 - Proeritroblasto di rana.

„ 2-6. - Eritroblasti basofili di rana.

„ 7-10. - Eritroblasti policromatofili.

„ 11. - Eritroblasto in via di divisione diretta.

„ 12. - Eritroblasto policromatofilo ed eritrocito maturo.

„ 13. - Striscio di sangue della rana salata. Campo non combinato. Enorme iperplasia di eritroblasti e megaloblasti nel sangue circolante.

„ 14. - Striscio di sangue della rana salata. Campo combinato. Anisocitosi e e poichilocitosi dei corpuscoli rossi.

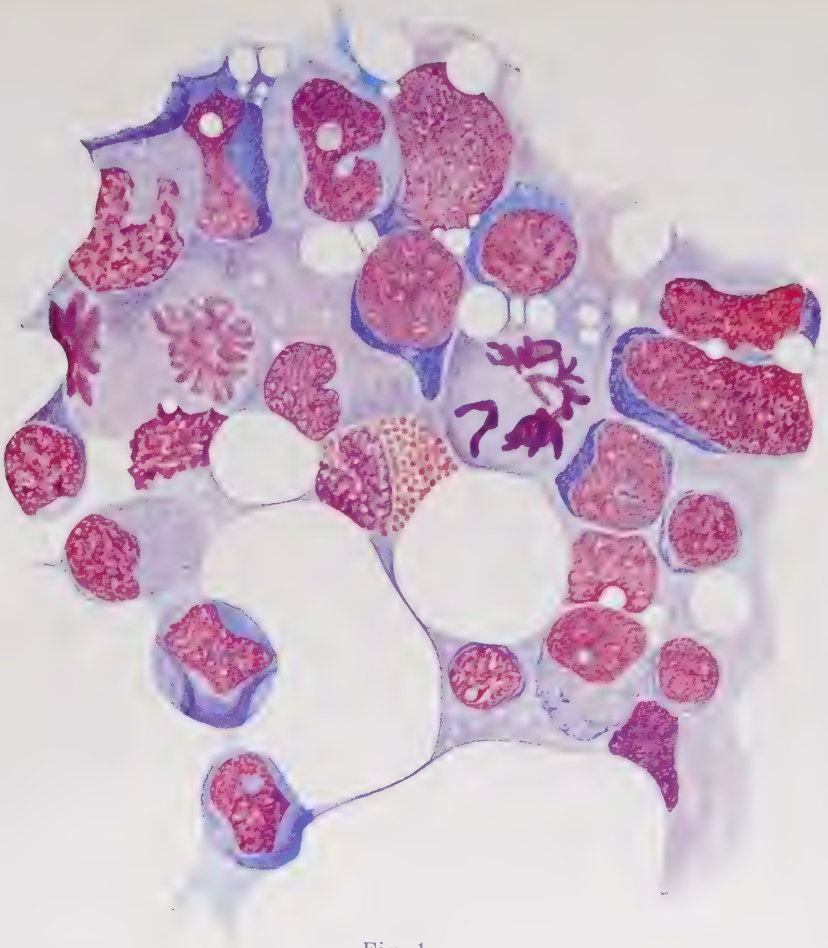


Fig. 1

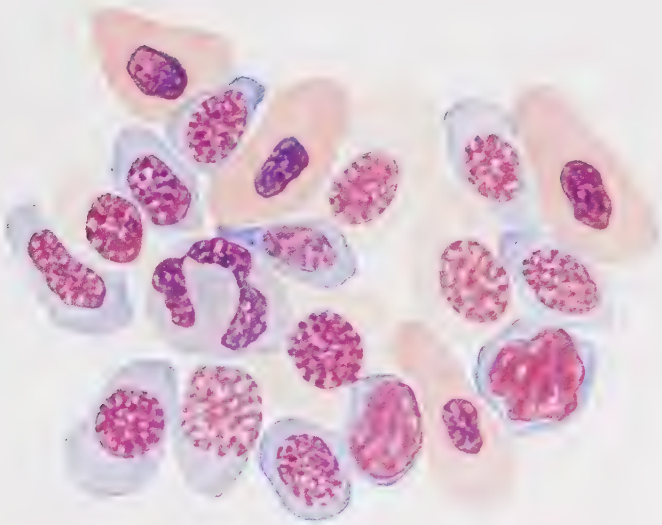


Fig. 2.

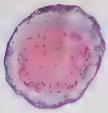


Fig. 1

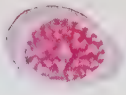


Fig. 2

Fig. 3

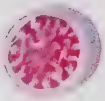


Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 8

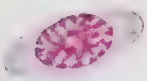


Fig. 9

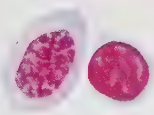


Fig. 10

Fig. 11

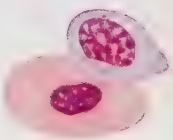


Fig. 12

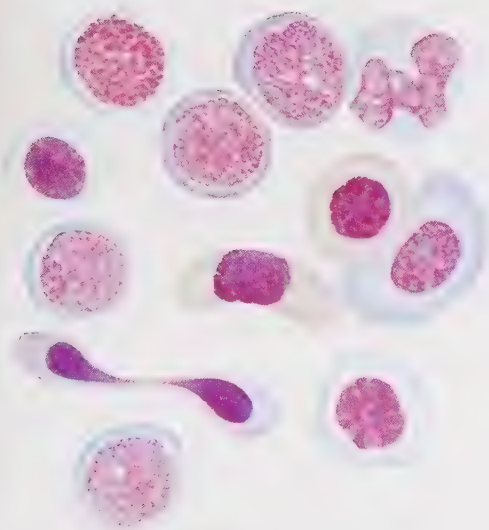


Fig. 13

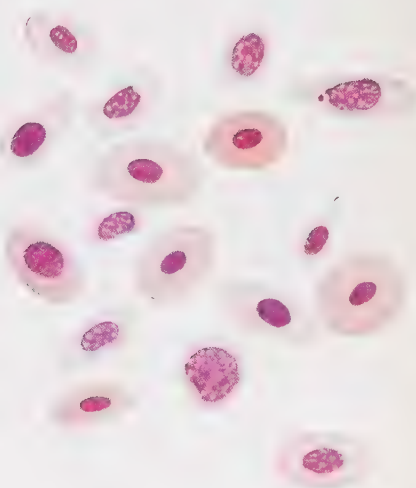


Fig. 14

Dal **Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale**
Vol. VI, fasc. 2, 1931
Sezione di Pavia. Seduta del 6 febbraio 1931.

INFLUENZA DELLA TIROIDE SUL PUNTO ISOELETTRICO DELLA CUTE E DEI MUSCOLI.

Del dott. Rodolfo Ferrari, Aiuto.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia).

In alcune ricerche precedenti (1) constatai che la tiroide ha importanza nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline. In tali ricerche osservai che l'edema che si produce in un preparato d'orecchio o di zampa di coniglio, quando venga perfuso con liquido di Ringer-Locke ossigenato, ha una intensità praticamente costante. Dopo la tiroidectomia, quando sono manifesti i segni della deficienza tiroidea, l'edema che si produce nelle stesse condizioni, è notevolmente maggiore. Nell'animale normale constatai inoltre che la presenza di piccole quantità di tiroxina nel liquido di perfusione è sufficiente per ridurre notevolmente la intensità dell'edema.

I risultati di questi esperimenti indicano che i tessuti, anche quando siano staccati dall'organismo e vengano irrorati con un liquido privo di ormoni tiroidei, conservano, nel loro ricambio idrico, le proprietà che sono state loro impresse dalla presenza o meno della tiroide.

Per stabilire quale possa essere il meccanismo d'azione della tiroide nella produzione dell'edema da perfusione con soluzioni saline, eseguii alcune ricerche sul punto isoelettrico della cute e dei muscoli in conigli normali e tiroidectomizzati.

Queste ricerche mi sono state suggerite dalla considerazione che, come Loeb (2) dimostrò, in corrispondenza del punto isoelettrico tutte le proprietà fisico-chimiche delle proteine e quindi anche la loro pressione

(1) Ferrari R. - Questo *Boll.*, 1930, **5**, 414; *Archivio di Fisiologia*, 1930, **29**, 191.
(2) Loeb G. - *Journ. of gen. Physiol.*, 1920, **3**, p. 85 e 247.

ISTITUTO DI FISIOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA

(Direttore: Prof. T. Gayda)

DOTT. RODOLFO FERRARI

AIUTO

Sulla divisione diretta degli eritrociti circolanti della rana

I. – Introduzione e scopo delle ricerche.

La dottrina, universalmente accettata, che i corpuscoli rossi maturi e differenziati del sangue sono cellule incapaci di riprodursi (Koellliker-Ebner) (1), non sembra in armonia colle osservazioni fatte da alcuni Autori sulla loro moltiplicazione per divisione diretta.

Bizzozzero e Torre (2) osservarono per i primi eritrociti in via di amitosi nel sangue circolante e nella milza di *Carassius auratus*. Alcuni di questi elementi erano uguali per struttura agli eritrociti maturi del sangue, ma presentavano il nucleo provvisto di uno strozzamento equatoriale profondo. Altri avevano una forma assai allungata, con uno strozzamento equatoriale di tutta la cellula e col nucleo diviso in due metà unite da un filamento sottilissimo. Talvolta le due metà della cellula, contenenti ciascuna un nucleo, erano unite solo da un peduncolo citoplasmatico finissimo, diritto o ricurvo. Bizzozzero e Torre, avendo osservato che il salasso provocava, nel sangue di *Carassius auratus*, un aumento soltanto dei globuli rossi giovani in cariocinesi, lasciarono insoluta la questione se l'amitosi degli eritrociti desse veramente origine a nuovi corpuscoli rossi. Bizzozzero e Torre trovarono che anche in vitro gli eritrociti subivano talvolta uno strozzamento progressivo, ma esso non era mai accompagnato dalla separazione completa delle due metà, che rimanevano sempre unite da un filamento di sostanza incolore. Il filamento si spezzava, per azione meccanica, muovendo bruscamente il preparato.

Gli eritrociti del sangue dei pesci, in via di amitosi, furono osservati anche da Mencl (3), nel sangue circolante di *Scorpaena porcus*, e da Plehn (4), frequentemente, nel sangue di alcuni pesci sperimentalmente anemizzati.

Recentemente Stolz (5) potè confermare, con ampia documentazione, la divisione diretta degli eritrociti dei pesci. In condizioni normali, nel sangue circolante di *Cyprinus carpio*, i globuli rossi in via di divisione diretta sono estremamente rari e aumentano negli animali ripetutamente sottoposti a salasso. Mentre nel sangue normale gli eritrociti in divisione si riscontrano nella proporzione del 0,04 %, negli animali anemizzati la proporzione può aumentare fino al 12 %. Con la colorazione sopravitale, Stolz osservò, anche, che il citoplasma di alcuni eritrociti in via di divisione diretta era talvolta provvisto di granulazioni basofile. Secondo Stolz, i globuli rossi dei pesci, in condizioni normali, in parte si rinnoverebbero dalle cellule indifferenziate dei tessuti ematopoietici, ed in massima parte, per divisione degli elementi adulti, per cariocinesi negli organi centrali e per divisione diretta delle cellule circolanti del sangue (genesi ematica delle cellule del sangue).

Della Valle (6), nel sangue della larva di *Salamandra maculosa* constatò eritrociti circolanti in via di divisione diretta o in cariocinesi. Alcune di queste cellule presentavano anzi forme, per così dire, intermedie tra il processo di amitosi e quello di mitosi. Della Valle riscontrò infatti eritrociti in proliferazione:

a) con divisioni nucleari, in cui la cromatina era disposta in numerosissimi granuli molto piccoli ed i limiti del nucleo verso il citoplasma erano ancora più o meno nettamente conservati (persistenza della membrana nucleare).

b) con divisioni nucleari, caratterizzate da un numero grandissimo di cromosomi dalle dimensioni molto minori di quelle tipiche.

In base alle forme osservate, il cui carattere principale, secondo Della Valle, sarebbe il progressivo aumento del numero degli elementi cromatici ed una correlativa diminuzione delle loro dimensioni, l'A. sostiene esplicitamente la continuità delle forme di divisione nucleare mitotica ed amitotica degli eritrociti del sangne. Per tale continuità i cromosomi non sarebbero, secondo Della Valle, che aggregazioni variabili e temporanee della cromatina.

Forme simili a quelle osservate da Della Valle nel sangue della larva di *Salamandra maculosa*, Lurini (7) riscontrò nel sangue delle larve di *Triton cristatus*. L'intima struttura del nucleo degli eritrociti in divisione, non è, secondo Lurini, quella del nucleo allo stato di riposo. La cromatina è più o meno omogeneamente sparsa nel corpo nucleare in modo da dare un aspetto vescicolare alle due porzioni del nucleo, che rimangono però collegate da una sottilissima regione jalina, che va man mano striandosi, tanto da potervi facilmente riconoscere alcuni filamenti delicatissimi, che la percorrono

longitudinalmente. mantenendosi approssimativamente paralleli tra loro. Lo strozzamento della massa protoplasmatica può avvenire contemporaneamente a quello del nucleo, oppure può iniziarsi quando le due parti di questo si sono già grandemente allontanate l'una dall'altra; qualche altra volta il protoplasma rimane indifferente, quantunque lo strozzamento del nucleo sia già visibilissimo. Lurini dà una interpretazione dei fatti osservati del tutto diversa da quella di Della Valle e considera tutte le cellule eritrocitarie in via di divisione amitotica, comprese le forme intermedie di Della Valle, come vere degenerazioni cellulari. Tale interpretazione secondo Lurini, è basata sul fatto:

a) che nessun Autore vide mai compiersi finora una reale e completa scissione, per amitosi, della cellula in due parti;

b) che numerose forme degenerative possono simulare le forme di amitosi osservate nel sangue di *Triton cristatus*.

Lurini esclude quindi che le cellule del sangue di *Triton cristatus* si possano riprodurre per divisione diretta.

Anche Jolly (8) osservò incidentalmente nel sangue di Tritone alcune forme di eritrociti, che interpretò come pseudo-amitosi. L'A. escluse che tali forme fossero vere divisioni cellulari, perchè non vide mai rompersi il filamento che riuniva l'una all'altra metà.

Nel sangue di *Necturus*, eritrociti in via di divisione diretta furono descritti da Charipper e Dawson (9-10). Oltre alle forme già note, gli Autori osservarono eritrociti con doppio nucleo senza costrizione protoplasmatica ed eritrociti in cui la costrizione citoplasmatica era posta eccentricamente al nucleo perfettamente normale. Gli eritrociti in via di amitosi, sempre in numero scarsissimo, secondo Charipper e Dawson, non sarebbero che cellule vecchie in degenerazione o in disfacimento.

Cocquio (11) infine descrisse nel sangue normale dell'anguilla, e Babuder in quello di *Lacerta muralis*, le caratteristiche figure a manubrio o a bisaccia degli eritrociti in divisione. Cocquio osservò che in seguito all'azione emolitica della saponina si determina, durante il periodo della rigenerazione degli eritrociti distrutti, un lieve aumento dei globuli rossi in divisione diretta nel sangue circolante.

Le ricerche, finora eseguite dagli AA., sulla divisione diretta degli eritrociti circolanti non permettono ancora di stabilire con certezza se tale processo conduca veramente alla formazione di cellule figlie o non sia invece un carattere di senescenza o di degenerazione cellulare; la questione se gli eritrociti maturi del sangue siano cellule capaci di riprodursi, rimane quindi insoluta. Molto importante però a questo proposito è la presenza del centrosoma

che Golgi (12) dimostrò con ampia documentazione, come normale carattere di struttura, nei globuli rossi maturi del sangue di tutte le classi dei vertebrati. Questa particolarità istologica era stata precedentemente osservata da Dehler (13) e da Heidenhain (14) soltanto nei globuli rossi delle primissime fasi embrionali nel pollo e nell'anitra. Poichè la presenza del centrosoma è universalmente ritenuta nota caratteristica delle cellule capaci di divisione, nella interpretazione del reperto si presentò a Golgi il dilemma: « o il centrosoma è documento dimostrativo di conservata attività formativa, ed in tal caso sarebbe erronea l'opinione generale che i globuli rossi siano ormai elementi caduchi e destinati alla distruzione, oppure i globuli rossi sono veramente elementi arrivati alla fine della loro fase evolutiva e destinati ad essere distrutti, come generalmente ancora si afferma, ed in tal caso perderebbe valore il significato attribuito al centrosoma nel senso ora detto ». Per una affermazione nell'uno o nell'altro senso, secondo Golgi, mancano ancora elementi di giudizio, elementi dei quali forse si potrà venire in possesso, mediante studi e ricerche ulteriori.

Alcuni di questi elementi di giudizio potrebbero evidentemente essere dati dallo studio del comportamento del centrosoma di Golgi durante la divisione diretta degli eritrociti maturi del sangue.

A tale scopo mi proposi di rendere oggetto di particolare ricerca un vivacissimo processo di amitosi degli eritrociti da me osservato (15) assieme alla proliferazione per cariocinesi degli eritroblasti, nel sangue circolante della rana salata. In questa ricerca mi proposi anzitutto di accertare:

1) se gli eritrociti maturi del sangue della rana sono veramente capaci di riprodursi e se tale riproduzione avviene esclusivamente per amitosi.

2) se tra gli eritrociti della rana in via di riproduzione esistono forme intermedie tra il processo di mitosi e quello di amitosi, analoghe a quelle osservate da Della Valle nel sangue di *Salamandra maculosa*

3) se l'amitosi degli eritrociti del sangue della rana è un processo fisiologico o patologico.

4) se l'amitosi interviene nella riproduzione e nella differenziazione delle cellule immature della serie rossa.

5) infine, se il centrosoma degli eritrociti maturi della rana interviene nell'amitosi degli eritrociti stessi.

II. - Tecnica.

Eseguii tutti gli esami sul sangue della rana salata, a fresco o su preparati per striscio. Per fare la salatura della rana, seguii la tecnica indicata da Gayda (16) e da me già altre volte riportata (15, 17). Per eseguire gli esami del sangue della rana salata, tagliavo uno o due dita di un arto dell'animale oppure prendevo il sangue direttamente dal cuore, colorando gli strisci con May-Grünwald-Giemsa od esaminando a fresco con forte ingrandimento una gocciolina di sangue, che lasciavo cadere dal dito reciso sopra un vetrino porta-oggetti. Stabilivo se le cellule in amitosi erano eritrociti con caratteri di giovinezza o senescenti, mediante la colorazione sopravitale con brillant-kresil-blau o con bleu di metilene. È lecito infatti escludere che gli eritrociti in via di amitosi siano cellule senescenti, se sostanza granulo-filamentosa o metacromatica o granulazioni basofile si possono dimostrare nel loro citoplasma. A questo proposito seguii la tecnica indicata da Ferrata (13) per le colorazioni sopravitali. Infine per la dimostrazione del centrosoma negli eritrociti normali e in quelli in via di divisione diretta seguii in ogni particolare la tecnica indicata da Golgi. Il procedimento è basato sul metodo reso noto da Golgi fin dal 1891 nella sua comunicazione " Di una nuova reazione apparentemente nera degli elementi nervosi ottenuti col bicloruro di mercurio „ e dell'altro metodo fondamentale più antico, della colorazione nera col nitrato d'argento. Come osserva Golgi, tale procedimento, non ancora perfetto, è tuttavia suscettibile di ulteriori miglioramenti.

I liquidi reagenti da me adoperati tra quelli consigliati da Golgi furono più frequentemeute:

a) una miscela in parti uguali di una soluzione di bicromato di potassio al 2 % e di una di bicloruro di mercurio pure al 2 %, coll'aggiunta di alcune gocce di acido acetico (5-10 gocce per 100 cm^3);

b) una miscela in parti uguali di una soluzione di bicromato di potassio all'1 % e di una di bicloruro di mercurio al 0,50 %;

c) liquido di sviluppo fotografico (amidol g 0,5, solfito di sodio g 10, acqua g 100;

d) liquido di viraggio (solfocianuro d'ammonio g 30, iposolfito di sodio g 30, acqua distillata g 1000);

e) soluzioni di nitrato d'argento all'1 % e al 2 %.

Il sangue dell'animale fu ottenuto tagliando la testa della rana e immergendo la estremità recisa del corpo nel liquido fissatore in modo che il sangue, uscendo a fiotti dai grossi vasi, si mettesse subito a contatto col reattivo. Dopo avere ripetutamente e accuratamente lavati i corpuscoli del sangue con acqua distillata, allontanandola ogni volta per decantazione, aggiungevo al sedimento di corpuscoli la soluzione all'1 % o al 2% di nitrato d'argento. Se la lavatura era stata sufficiente, l'aggiunta della soluzione di nitrato d'argento non dava luogo a precipitato; a distanza di 24 ore spesso la sostituivo con altra. Questa semplice sostituzione qualche volta bastò per determinare direttamente la reazione colla comparsa di caratteristici granuli appaiati. La reazione fu risvegliata e intensificata facendo agire lo sviluppo, mettendo cioè a contatto sul vetrino porta-oggetti una goccia del sedimento di corpuscoli con una goccia dello sviluppo e mescolandole tra loro.

Prima di far agire lo sviluppo è necessaria una lavatura molto accurata del materiale con acqua distillata.

III. - Risultati sperimentali.

Durante i processi della rigenerazione del sangue della rana salata, constatai con frequenza, nei preparati di sangue a fresco o per striscio, eritrociti dalle caratteristiche figure a manubrio, a bisaccia, ad otto, descritti dagli Autori in altre specie come eritrociti in via di divisione diretta. Questa divisione può presentarsi nelle forme seguenti:

1) *Una forma di divisione amitotica nucleare non seguita o accompagnata da divisione del citoplasma* (fig. 9). — La divisione del nucleo, simmetrica o no, per lo più avviene per la formazione di una finissima fessura, senza costrizione del nucleo e senza che le due metà si discostino, oppure avviene per strozzamento del nucleo a clessidra fino alla separazione completa o incompleta delle due parti. Il citoplasma rimane indifferente al processo. Nella cellula eritrocitaria, in cui è avvenuta la divisione del nucleo, restando integra l'individualità cellulare, la grandezza in toto della cellula risulta sempre notevolmente maggiore della cellula normale.

2) *Una forma di divisione amitotica nucleare seguita o accompagnata dalla divisione del citoplasma.* — Gli eritrociti in divisione presentano tutte le caratteristiche forme osservate dagli Autori nel sangue di altre specie.

Alcuni eritrociti differiscono da quelli normali per il nucleo che ha una forma ad otto invece che quella ovale (fig. 1, 2, 3).

Contemporaneamente o successivamente allo strozzamento mediale del nucleo si osserva quello citoplasmatico (fig. 2, 3), così che la forma di tutto l'elemento asseconda quella del nucleo nei vari stadi della divisione.

Allorchè i due nuclei figli sono uniti da un peduncolo cromatinico sottilissimo, la forma più comune della cellula è quella a bisaccia (fig. 4, 5, 6).

Quando invece i due nuclei figli sono indipendenti e separati completamente tra loro, la cellula assume la forma di due pere allungate tenute assieme per la loro estremità affilata (fig. 4, 5, 6). Il fatto che, con tutta probabilità, dimostra che il processo conduce veramente alla formazione di cellule figlie è la constatazione di eritrociti circolanti, che hanno la forma di pera, allungata ed appuntita ad un estremo (fig. 7, 8). La formazione di cellule figlie può pure talvolta avvenire per la formazione di una finissima fessura che interessa tanto la massa nucleare quanto quella citoplasmatica, fino alla separazione delle due parti, senza che le due metà cellulari si disco-

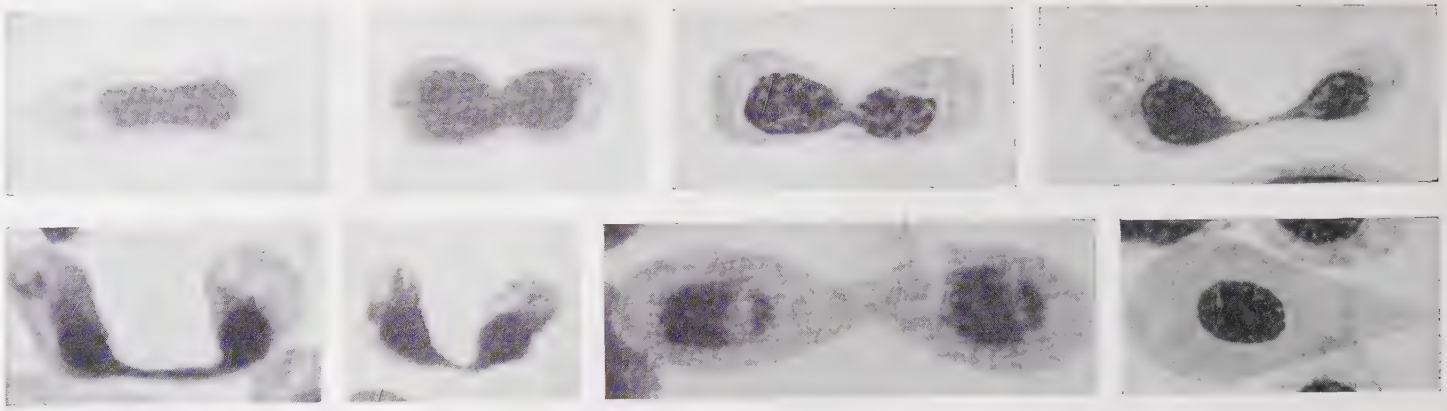
stino. Indubbiamente questa varietà di amitosi costituisce il processo meno frequente (fig. 12).

3) *Forme asimmetriche di amitosi degli eritrociti circolanti.* — L'asimmetria può riguardare tanto la divisione del nucleo quanto quella del citoplasma o l'una e l'altra parte assieme, con formazione di eritrociti con protoplasma in eccesso rispetto al nucleo o con nucleo in eccesso rispetto al protoplasma (fig. 10, 11, 12). Accanto a queste forme debbo ricordarne alcune altre in cui le fasi della divisione citoplasmatica non sono accompagnate da divisione nucleare. Come risulta anche dalle figure 13, 14, 15, 16, il processo si può così ricostruire: il nucleo di struttura normale si presenta eccentrico ad una estremità della cellula. Il citoplasma dapprima conserva la sua forma allungata ed ovale, poi presenta una strozzatura equatoriale appena accennata, che in seguito si approfonda progressivamente fino alla separazione in due parti: l'una costituita dal nucleo circondato da scarso protoplasma, l'altra da una porzione ampia di protoplasma, di forma ellittica o tondeggiante, che non si differenzia degli eritrociti privi di nucleo del sangue della rana.

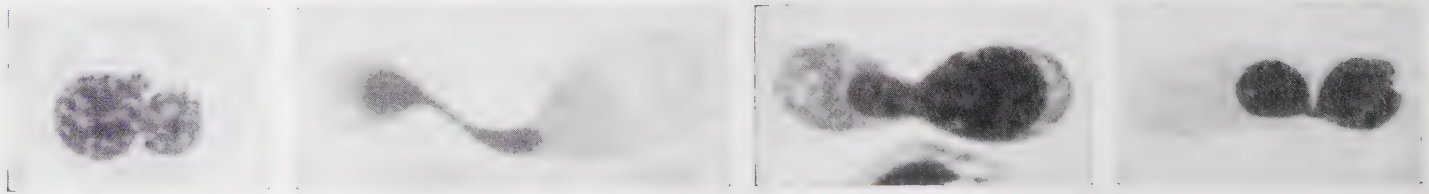
Tutti gli eritrociti in via di amitosi sono elementi maturi o assai prossimi alla maturazione, gli elementi della serie eritrocitaria in cariocinesi sono invece cellule immature, per lo più a forma tondeggiante. Queste cellule in cariocinesi si distinguono sempre da quelle della serie bianca o da quelle reticolo-endoteliali, oltre che per altri caratteri, per la loro intensissima basofilia del protoplasma.

Il processo di amitosi degli eritrociti fu seguito, nelle sue varie fasi, fino alla separazione di vere cellule eritrocitarie figlie. La costituzione morfologica delle cellule figlie, originate per amitosi, è in tutto simile a quella delle cellule madri (proliferazione omoplasica. La riproduzione per cariocinesi degli eritroblasti, a differenza di quella per amitosi, porta invece alla formazione di cellule figlie, che acquistano, poi, per processo di differenziazione, caratteri nucleari e plasmatici diversi da quelli della cellula madre (nucleo differenziato verso una forma più matura, citoplasma più ricco di pigmento emoglobino, proliferazione eteroplasica). Se ciò avvenga per la mancata formazione o meno di cromosomi nella cellula proliferante o per gli altri caratteri differenziali tra il processo di amitosi e quelle di mitosi, per ora non è possibile dire.

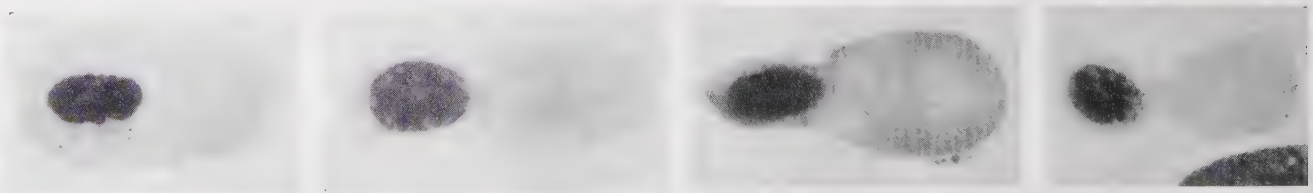
Tra le cellule proliferanti della serie rossa non potei riscontrare in modo certo le forme di cariocinesi anomale, con progressivo aumento del numero di cromosomi, nè alcuna delle altre forme os-



Figg. 1-8. - Microfotografie eseguite su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa.
Fasi successive della divisione diretta degli eritrociti.



Figg. 9-12. - Microfotografie eseguite su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa.
Amitosi asimmetriche degli eritrociti.



Figg. 13-16. - Microfotografie eseguite su striscio di sangue di rana salata, colorato con May-Grünwald-Giemsa.
Stadi di formazione degli eritroplastidi.

servate da Della Valle nel sangue della larva della salamandra e interpretate come figure intermedie tra il processo di amitosi e quello di mitosi.

Le colorazioni sopravitali, eseguite con brillantkresilblau e con bleu di metilene, fanno rilevare che la sostanza granulo-filamentosa si riscontra in tutte le cellule della serie rossa del sangue della rana salata, quella metacromatica e le granulazioni basofile in molte di esse (fig. 17, 18). Gli stessi reperti si possono dimostrare negli eritrociti in via di divisione. In alcuni di questi la sostanza granulo-filamentosa è raccolta in fitte granulazioni e filamenti di colore azzurro nella zona immediatamente perinucleare, in altri essa ha una fine disposizione reticolare, diffusa uniformemente a quasi tutto il protoplasma. Nessuna differenza si osserva nella disposizione della sostansa granulo-filamentosa tra le cellule in via di divisione e quelle in riposo. La sostanza granulo-filamentosa e quella meta-

Figg. 17 e 18.

Disegno eseguito su striscio di sangue di rana salata, colorato con bleu di metilene.

Eritrociti in via di divisione diretta, con granulazioni basofile nel protoplasma.

cromatica si riscontrano anche in quelle forme di amitosi asimmetrica in cui si verifica la separazione di una parte del citoplasma, senza la compartecipazione del nucleo.

Le reazioni indicate da Golgi per la dimostrazione del centrosoma nei globuli rossi maturi del sangue circolante confermarono con grande chiarezza tale particolarità istologica negli eritrociti della rana normale e negli eritrociti ed eritroblasti della rana salata (fig. 19). Nelle cellule osservate il centrosoma apparve, come osservò già Golgi, sotto forma di punticini di intenso color nero, di varia grandezza, circondati da una speciale areola chiara. I granuli sono per lo più appaiati o a tre o formanti piccoli gruppi a lato del nucleo, in prossimità di un polo di esso od anche in posizione distante dal nucleo stesso. Un grande numero di prove eseguii per osservare tali granuli negli eritrociti in via di divisione diretta e in molte di queste cellule riuscì di grande evidenza il reperto di

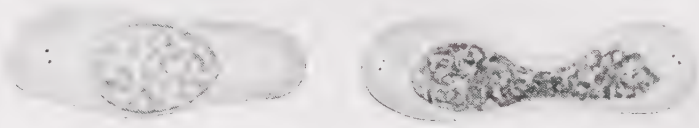
caratteristici granuli, distintamente separati tra di loro e disposti in prossimità del nucleo, all'estremità opposte della cellula (fig. 20). Lo stesso reperto riscontrai anche in cellule agli stadi iniziali della loro divisione. Nessuna altra particolare variazione concomitante potei tuttavia riscontrare nella struttura del citoplasma e del nucleo degli eritrociti durante la loro divisione.

IV. – Discussione e interpretazione dei risultati sperimentali.

Dai risultati delle mie ricerche sulla riproduzione per amitosi degli eritrociti del sangue della rana, alcuni fatti restano fin d'ora ben stabiliti:

1) Negli eritrociti della rana la riproduzione della cellula è perfettamente conservata ed avviene per amitosi;

2) Nella serie eritrocitaria della rana non si può dimostrare in modo certo la continuità tra il processo di mitosi e quello di amitosi, continuità che Della Valle sostenne per gli eritrociti del sangue della larva di *Salamandra maculosa*;



Figg. 19 e 20.

Disegno eseguito su sangue di rana salata, trattato colla tecnica indicata da Golgi.

Presenza del centrosoma nell'eritrocito normale (fig. 19) e nell'eritrocito in via di divisione diretta (fig. 20).

3) Le colorazioni sopravitali dimostrano chiaramente che l'amitosi degli eritrociti è un attributo non di cellule senescenti, ma di eritrociti altamente differenziati, presentanti tuttavia alcuni caratteri di giovinezza (sostanza granulo-filamentosa, sostanza metacromatica, granulazioni basofile);

4) La riproduzione per amitosi si verifica soltanto tra gli eritrociti maturi o assai prossimi alla maturazione e quella per cariocinesi tra le cellule immature della serie rossa. Si può perciò escludere che l'amitosi intervenga nella differenziazione delle cellule della serie eritrocitaria della rana.

5) La presenza del centrosoma negli eritrociti del sangue circolante della rana ed in via di divisione conferma la capacità riproduttiva di queste cellule altamente differenziate.

Tra gli altri fatti da me osservati merita particolare rilievo il meccanismo di formazione degli eritrociti privi di nucleo del sangue della rana. La descritta separazione di ampie porzioni di citoplasma dagli eritrociti circolanti, che porta alla formazione di eritrociti con nucleo in eccesso rispetto al protoplasma e di un eritroplastide, si può raffigurare come il termine estremo di una serie di amitosi sempre più asimmetriche, in cui la divisione del citoplasma avviene in modo del tutto indipendente dal nucleo. La ipotesi da me espressa per interpretare i fatti osservati è giustificata anche dai risultati di alcune ricerche degli Autori sulla origine degli eritroplastidi del sangue.

Giglio-Tos (18) nel sangue di *Batrachoseps attenuatus* osservò che pezzi anucleati di protoplasma potevano separarsi dal protoplasma degli eritrociti nucleati circolanti. L'A. propose di chiamare questo fenomeno col nome di merotomia, pensando che si trattasse di un processo analogo a quello con cui si formano le cellule anucleate nelle segmentazioni meroblastiche.

Emmel (19) osservò in culture autoplastiche di sangue di porco una progressiva costrizione del citoplasma degli eritrociti nella regione tra polo nucleare e citoplasmatico fino alla divisione della cellula in due parti, una nucleata e l'altra no. Oltrechè nelle culture di sangue, Emmel potè confermare il reperto nel sangue embrionale esaminato per striscio e a fresco.

La formazione di eritrociti anucleati per lo stesso processo fu constatata anche da Charipper e Dawson (8) nel sangue circolante di *Necturus* e Dawson (9) la osservò anche tra gli eritrociti di *Necturus* sopravviventi nel plasma dello stesso animale.

Jolly (20) ammette tuttavia che gli eritrociti anucleati del sangue della rana si formino con lo stesso meccanismo con cui gli eritroblasti dei mammiferi perdono il loro nucleo.

Senza volere escludere, per il sangue della rana, quest' ultima ipotesi, la quale finora, pur non trovando conferma nei fatti osservati, è ancora assai diffusa tra gli ematologi, a me sembra lecito affermare, in base ai miei reperti, che gli eritrociti anucleati della rana si formano per la separazione di una parte del citoplasma degli eritrociti circolanti. Il complesso dei fatti messi in evidenza dalle mie ricerche fa pensare che tale separazione avvenga per fenomeno vitale di amitosi asimmetrica, che conduce alla formazione di un eritrocito con nucleo in eccesso rispetto al protoplasma e di un' ampia porzione di citoplasma anucleata.

V. - Conclusioni.

I risultati delle mie ricerche sulla divisione diretta degli eritrociti della rana si possono compendiare nei fatti seguenti:

1) Negli eritrociti della rana la riproduzione della cellula è perfettamente conservata ed avviene per amitosi.

2) Nella serie eritrocitaria della rana non si può dimostrare, in modo certo la continuità tra il processo di amitosi e quello di mitosi, continuità che Della Valle sostenne per gli eritrociti della larva di *Salamandra maculosa*.

3) Gli eritrociti anucleati del sangue circolante della rana si formano per la separazione di una parte del citoplasma degli eritrociti circolanti. Questa separazione con tutta probabilità avviene per fenomeno vitale di amitosi asimmetrica, che conduce alla formazione di un eritrocito con nucleo in eccesso rispetto al protoplasma e di un eritrocito anucleato o eritroplastide.

4) Le colorazioni sopravitali dimostrano chiaramente che l'amitosi degli eritrociti non è un attributo di cellule senescenti, ma di eritrociti altamente differenziati, presentanti tuttavia alcuni caratteri di giovinezza (sostanza granulo-filamentosa, sostanza metacromatica, granulazioni basofile).

5) La produzione per amitosi si verifica soltanto tra gli eritrociti maturi o assai prossimi alla maturazione e quella per cariocinesi tra le cellule immature della serie rossa. In base a questi fatti si può escludere che l'amitosi intervenga nella differenziazione delle cellule della serie eritrocitaria della rana salata.

6) La presenza del centrosoma negli eritrociti del sangue circolante della rana ed in quelli in via di divisione conferma la capacità riproduttiva di queste cellule altamente differenziate.

Bibliografia.

1. Kölliker — Handbuch der Gewebelehre des Menschen. - Sesta ed., Vol. III, compilato da von Ebner, pag. 748, Leipzig, 1889.
2. Bizzozzero G. e Torre — De l'origine des corpuscules sanguines rouges dans les différents classes des Vertébres. - Arch. Ital. de Biol., IV, 1883.
3. Mencl - Directe Teilung von roten Blutkörperchen bei Scorpaena. - An. Anz. XXXVII, 569, 1910.
4. Plehn — Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas. - Praktikum der Fischkrankeiten, Stuttgard, I, 1924.
5. Stolz R. — Ematopoiesi normale e sperimentale nei pesci teleostei. - Haematologica, IX, 419, 1928.

6. Della Valle P. — La continuità delle forme di divisione nucleare ed il valore morfologico dei cromosomi. - Arch. Zool. Ital., V, 118, 1911.
7. Lurini L. — Amitosi e degenerazione cellulare negli eritrociti delle larve di Triton cristatus. - Arch. Ital. di Anat. e di Embr., XX, 522, 1923.
8. Jolly J. — Récherches expérimentales sur la division indirecte des globules rouges. - Arch. Anat. Micr., VI, 455, 1904.
9. Charipper A. H. and Dawson A. B. — Direct division of erytrocytes and the occurrence of eritroplastides in the circulating blood of Necturus. - The Anat. Rec. 39, 301, 1928.
10. Dawson A. B. — Changes in form (including direct division, cytoplasmic segmentation and nuclear extrusion) of the erytrocytes of Necturus in plasma. - Am. Journ. Anat., 42, 139, 1928.
11. Cocquio G. — Il sangue, gli organi ematopoietici ed il tessuto reticoloendoteliale nell'anguilla. - Riv. di Biologia, XI, 7, 1929.
12. Golgi C. — Il centrosoma dei globuli rossi del sangue circolante dell'uomo e di altri animali. - Haematologica, I, 333, 1920.
13. Dehler A. — Beitrag zur Kentniss des feineren Baues der rothen Blutkörperchen beim Hühnenembrio. - Archiv. für mikroscopische Anatomie und Entwikelungsgeschichte, XXXXVI, 414, 1895.
14. Heidenhain M. (citato da Golgi) — Neue Untersuchungen über Centralkörper und ihre Beziehungen zumkern und Zellenprotoplasma. - Archiv. f. mikroscopische Anatomie, XXXXIII.
15. Ferrari R. — Ricerche ematologiche sulla rana salata. - Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim., IV, 843, 1929 e Haematologica, XII, 19, 1931.
16. Gayda T. — La produzione di calore nella rana in diverse condizioni sperimentali. Nota II. Ricerche sulla rana salata. - Arch. di Scienze Biologiche, II, 333, 1921.
17. Ferrari L. — Sulla formazione della emoglobina nel nucleo degli eritro blasti della rana. - Haematologica, XI, 267, 1930.
18. Ferrata A. — Le emopatie, I, 1918, Milano.
19. Giglio-Tos E. — Dei corpuscoli rossi del sangue nel Batrachoseps attenuatus. - An. Anz. XV, 293, 1399.
20. Emmel V. — Concerning certain cytological characteristics of the erytroblasts in the pig embryo and the origin of non nucleated erytrhrocites by a process of cytoplasmic constriction. - Am. Journal Anat. XVI, 127, 1914.
21. Jolly J. — Recherches sur la formation des globules rouges des mammifères. - Arch. d'Anatomie, IX, 133, 1907.
22 Babuder B. — Variazioni stagionali della formula ematica di Lacerta muralis. - Riv. di Sienze Naturali " Natura „, XX, 1, 1929.

Résumé.

L'A. a constaté que dans les globules rouges de grenouille la reproduction cellulaire est parfaitement conservée, et a lieu par amitose. Cette reproduction, selon l'A. n'appartient pas seulement aux cellules vieillissantes, mais a lieu aussi chez les érythrocytes à caractères juvéniles (substance granulo-filamenteuse, ou métachromasique, granulations basophiles). Le pouvoir reproducteur

de ces cellules est confirmé aussi par la mise en évidence du centrosome pendant leur division.

L'A. a observé en outre, les phases de la séparation d'amples portions de cytoplasme hémoglobinique des érythrocytes circulants qui démontrent l'origine des érythrocytes anucléés de la grenouille. Ceci a lieu, selon toute probabilité, grâce à un phénomène vital d'amitose asymétrique, qui porte à la formation d'un érythrocyte pourvu d'un noyau excessif proportionnellement au protoplasme, et d'un érythrocyte anucléé on érythroplastide.

Dal **Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale**

Vol. VI, fasc. 6, 1931

SEZIONE DI PAVIA. Seduta del 30 giugno 1931.

INFLUENZA DEI SALASSI E DELL'ADRENALINA SULLA COAGULABILITÀ DEL SANGUE.

Di FRANZ CORTESE.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia).

Spadolini (1) dimostrò che, durante la splenocontrazione provocata dalla stimolazione del plesso lienale, il sangue che defluisce dalla milza coagula molto rapidamente e contiene una quantità notevole di piastrine che può, almeno in parte, spiegare l'aumento della coagulabilità del sangue. In seguito Clintock, John e Magers (2) e Viale (3) osservarono che nel cane l'ipercoagulabilità da salasso manca dopo la splenectomia; gli autori attribuirono perciò l'ipercoagulabilità da salasso all'immissione in circolo, per splenocontrazione, di sostanze od elementi che accelerano la coagulazione del sangue. Analogamente è spiegata da Turcatti (4) e Viale (5) la ipercoagulabilità da adrenalina nel cane, che mancherebbe dopo la splenectomia.

Ho ripreso lo studio dell'argomento, indagando in una prima serie di ricerche le variazioni della coagulabilità del sangue per effetto di salassi lievi e successivi, nel cane normale ed in alcune condizioni sperimentali quali la narcosi, la splenectomia e la surrenalectomia bilaterale.

Determinavo le variazioni del tempo di coagulazione con il metodo di Feissly (6), durante una serie di salassi lievi e successivi nel cane normale; raccoglievo il sangue da un'arteria mediante una cannula paraffinata. Ripetevo poi le determinazioni il giorno successivo nello stesso

(1) Spadolini I. - *Mon. Zool. Ital.*, 1924, **35**, 70.
(2) Clintock, John and Magers E. - *Proc. Soc. exp. biol. a. med.*, 1926, **24**, 203
(3) Viale G. - *Arch. di Scienze Biolog.*, 1928, **12**, 277.
(4) Turcatti E. S. - *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1929, **100**, 116.
(5) Viale G. - Questo *Boll.*, 1931, **6**, 185.
(6) Feissly R. - *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1927, **97**, 467.

animale, in una delle condizioni sperimentali suddette. Per conoscere le variazioni del tempo di coagulazione già pochi minuti dopo il salasso iniziale, montai e usai due apparecchi perfettamente uguali in modo di poter eseguire le due prime determinazioni contemporaneamente.

Gli esperimenti mi diedero i risultati seguenti.

Nel cane normale si produsse costantemente una diminuzione del tempo di coagulazione, massima a 8-30 minuti dall'inizio dello esperimento, in seguito il tempo di coagulazione aumentò di nuovo e spesso, a 50-60 minuti dal salasso iniziale, raggiunse o superò il valore normale.

Nel cane narcotizzato mediante iniezioni endoperitoneali di cloralio in soluzione acquosa al 25 %, in tre esperimenti su quattro non si verificò più aumento della coagulabilità dopo i salassi; nel quarto esperimento la narcosi era incompleta.

Nel cane splenectomizzato, cui la milza era stata asportata subito dopo la serie delle determinazioni del primo giorno di esperimento, in tre esperimenti si osservò costantemente lo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso, come nel cane normale.

Nel cane scapsulato, in cui la surrenalectomia era stata eseguita da tre ore fino a cinque ore e mezza prima dell'inizio delle determinazioni del secondo giorno, in tre esperimenti non si verificò più aumento della coagulabilità dopo i salassi: in un quarto esperimento tale aumento si riscontrò in una sola determinazione: in un quinto esperimento, nel quale la surrenalectomia era riuscita incompleta, si osservò ipercoagulabilità come in condizioni normali.

In una seconda serie di ricerche studiai l'influenza della adrenalina sulla coagulabilità del sangue, nel cane normale e nello stesso animale dopo la splenectomia.

In questi esperimenti, oltre alla determinazione del tempo di coagulazione determinavo anche la trombina nel siero di sangue, con il metodo di Wolgemuth (7), il fibrinogeno nel plasma, con il metodo di Foster e Whipple (8), l'antitrombina nel plasma, con il metodo di Howell e Hess (9).

Nel primo giorno di ciascun esperimento prelevavo il sangue per le determinazioni, nella quantità complessiva di 40 cc e dopo 35-40 minuti iniettavo nella vena femorale una soluzione di cloridrato di adrena-

(7) Wolgemuth J. - Grund. d. Fermentmethoden, Berlin, 1913, 320.
(8) Foster D. P. and Whipple G. H. - *Amer. J. of. Physiol.*, 1922, **58**, 365.
(9) Hess A. F. - *Journ. of exper. med.*, 1915, **21**, 338.

lina Parke-Davis e Co nella dose di mg 0,02 per kg di peso del corpo: 15-20 minuti dopo l'iniezione prelevavo di nuovo il sangue per le determinazioni. Le stesse manipolazioni eseguivo il giorno successivo nello stesso cane, splenectomizzato. La splenectomia fu eseguita, in tre esperimenti, subito dopo le determinazioni del primo giorno; in altri tre, un'ora prima dell'inizio delle determinazioni del secondo giorno.

In due esperimenti di controllo, nei quali tutte le determinazioni furono eseguite su animali che non erano stati sottoposti nè all'asportazione della milza nè alle iniezioni di adrenalina, risultò che la perdita complessiva di 40 cc di sangue non produce modificazioni della coagulabilità dopo 50-60 minuti e che le emorragie del primo giorno di esperimento ed il trauma operatorio della preparazione della carotide non determinano variazioni del tempo di coagulazione, della quantità di trombina e di quella di antitrombina, ma fanno aumentare solo il fibrinogeno.

In sei esperimenti risultò poi costantemente che l'adrenalina esplica la stessa azione sulla coagulabilità del sangue, sia nel cane normale, sia nel cane splenectomizzato. Tale azione consiste in una diminuzione del tempo di coagulazione, nel primo caso in media di un quarto, nel secondo di un terzo, in un aumento della trombina e in una lieve diminuzione dell'antitrombina, mentre il fibrinogeno non varia in modo sensibile.

Da queste ricerche risulta dunque che:

1) Salassi modici e successivi provocano nel cane un aumento rapido e transitorio della coagulabilità del sangue.

2) L'aumento della coagulabilità del sangue dopo i salassi manca nella narcosi completa e dopo la surrenalectomia; si può perciò pensare che esso sia dovuto ad una scarica di adrenalina provocata per via nervosa del salasso.

3) Si deve escludere che l'aumento della coagulabilità del sangue dopo i salassi e quello dopo iniezioni di adrenalina siano dovuti a contrazione della milza che versi in circolo sostanze od elementi che accelerino la coagulazione, perchè si producono anche negli animali splenectomizzati.

Dal **Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale**

Vol. VI, fasc. 6, 1931

Sezione di Pavia. Seduta del 30 giugno 1931.

INFLUENZA DEL PANCREAS SULLA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

Di R. Ferrari e F. Cortese.

(Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia).

Le ricerche eseguite finora sulla influenza che il pancreas esercita sulla coagulazione del sangue sono scarse ed incomplete; ci proponemmo perciò di riprendere in esame sistematicamente la questione studiando le variazioni della coagulabilità del sangue nel cane spancreato, in quello portatore di fistola pancreatica permanente ed in quello operato di legatura dei dotti pancreatici, determinando le variazioni non solo del tempo di coagulazione, ma anche della trombina, del fibrinogeno e dell'antitrombina.

Eseguivamo le determinazioni prima nel cane normale e poi nello stesso animale sottoposto ad uno degli interventi suddetti, ripetendo le determinazioni due o tre volte a varia distanza di tempo dall'atto operatorio. Prelevavamo il sangue da una delle carotidi o delle femorali, cambiando arteria ogni volta.

Per la determinazione del tempo di coagulazioni seguivamo il metodo di Feissly (1); per quella della quantità di trombina nel siero di sangue, il metodo di Wolgemuth (2); per quella del fibrinogeno nel plasma, il metodo di Foster e Whipple (3); per quella dell'antitrombina nel plasma, il metodo di Howel e Hess (4).

Eseguimmo i nostri esperimenti su 15 cani, di cui 6 furono spancreati, 4 operati di fistola pancreatica permanente, 3 sottoposti alla legatura dei dotti, 2 tenuti di controllo; in questi ultimi limitammo l'inter-

(1) Feissly R. C. - *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1927, **97**, 467.
(2) Wolgemuth J. - Grund. d. Fermentmettoden. Berlin, 1913, 320.
(3) Foster D. P. and Whipple G. H. - *Am. J. of Physiol.*, 1922, **58**, 365.
(4) Hess A. F. - *Journ. of exper. med.*, 1915, **21**, 338.

vento alla laparotomia sotto narcosi etereo-cloroformica, eseguendo poi le determinazioni come negli altri esperimenti.

Nei cani spancreati ci accertavamo che l'asportazione della ghiandola fosse completa, ricercando il glucosio nell'urina con il metodo di Nylander; la glicosuria apparve sempre prima che fossero trascorse 18 ore dall'intervento. In due esperimenti determinammo anche le variazioni della glicemia, con il metodo di Crecelius-Seyfert.

Nel cane spancreato, in due casi il tempo di coagulazione non subì variazioni, negli altri quattro presentò un aumento fino a raddoppiarsi; la trombina diminuì costantemente riducendosi alla metà, fino ad un ottavo; il fibrinogeno si raddoppiò; l'antitrombina non subì variazioni.

Nel cane operato di fistola pancreatica permanente si ebbero press'a poco gli stessi risultati; infatti il tempo di coagulazione aumentò all'incirca di due terzi; la trombina si ridusse alla metà, fino a un quarto; il fibrinogeno si raddoppiò; l'antitrombina non presentò alcuna variazione.

Nel cane operato di legatura dei dotti pancreatici non si ebbero variazioni costanti e caratteristiche del tempo di coagulazione e della quantità di trombina; solo talvolta, nelle determinazioni eseguite poco tempo dopo l'intervento operatorio, si notò un lieve abbreviamento del tempo di coagulazione ed un lieve aumento della trombina. Il fibrinogeno presentò un netto aumento; l'antitrombina non subì variazioni.

Nei cani di controllo non si ebbero variazioni del tempo di coagulazione, della trombina e dell'antitrombina; il fibrinogeno aumentò fino a circa il doppio del normale.

In base ai risultati sperimentali, noi crediamo di potere affermare quanto segue:

1) L'influenza che il pancreas esercita sulla coagulazione del sangue si esplica attraverso la sua funzione di ghiandola a secrezione esterna. Allorchè tale funzione manca, si produce un allungamento del tempo di coagulazione ed una diminuzione della trombina del sangue. Questo fatto, che è in armonia con la concezione teorica di Boldyreff (5) che il pancreas sia una delle principali sorgenti di protrombina, ci fa ritenere che nel succo pancreatico, se non esiste proprio la protrombina, sia contenuta però una sostanza, che, assorbita dall'intestino, passi nel sangue e ecciti la formazione di protrombina nel fegato o in altri organi. Quando il succo pancreatico non si versa più nell'intestino, come suc-

(5) Boldyreff W. N. - *Ergebnisse der Physiol.*, 1929, **29**, 575.

cede dopo l'asportazione del pancreas o nella fistola pancreatica permanente, tale sostanza viene a mancare e perciò diminuisce la coagulabilità del sangue. Quando invece i dotti sono legati, la sostanza in questione, che ristagna nel pancreas, passa da quest'organo direttamente in circolo in grande quantità e perciò aumenta la coagulazione del sangue.

2) Poichè dopo un certo tempo dall'intervento sul pancreas il tempo di coagulazione e la quantità di trombina tendono a riacquistare i valori normali, si deve ammettere che nell'organismo esistano fattori che vicariano la funzione pancreatica nella regolazione della coagulabilità sanguigna.

3) L'aumento costante del fibronogeno, osservato negli esperimenti, si deve considerare come una conseguenza del trauma operatorio, poichè essa si produce nella stessa misura anche negli esperimenti di controllo.

Dal **Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale**
Vol. VI, fasc. 6, 1931
Sezione di Pavia. Seduta del 30 giugno 1931.

RICERCHE SULLA COSTITUZIONE MORFOLOGICA DEL TIMO NELLA COSIDDETTA RANA SALATA.

Di R. Ferrari e M. Rusconi.

(Dall'Istituto di Fisiologia e dall'Istituto di Anatomia Umana della R. Università di Pavia).

Le sole ricerche istologiche eseguite finora sui tessuti della rana salata sono quelle compiute recentemente da uno di noi [Ferrari (1)] sulla costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici. In tali ricerche l'autore osservò che è possibile ottenere nella rana salata una anemia di gran lunga superiore per intensità ad ogni altra provocata finora sperimentalmente, la quale dura quasi immutata per parecchi mesi dopo la perfusione, senza che l'animale differisca nelle sue manifestazioni vitali dalla rana normale. Egli osservò inoltre che la costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici è caratterizzata da una enorme iperplasia delle cellule eritroblastiche nel sangue circolante, nel midollo delle ossa, nella milza e nel fegato e da un arresto del loro normale processo citoevolutivo.

Ora, poichè uno dei problemi più oscuri della moderna ematologia è la parte che il timo ha nei processi della rigenerazione del sangue ci proponemmo di esaminare la costituzione morfologica del timo nella rana salata.

Come risulta chiaramente dai nostri preparati, il timo nella rana salata da circa 20 giorni, a differenza di quello completamente involuto delle rane invernali di controllo, presenta una iperplasia fortissima

(1) Ferrari R. - *Haematologica*, 1931, **12**, 10

delle cellule della sostanza midollare, che appaiono spesso in cariocinesi. Alcune di queste cellule, grandi, di forma poligonale, con grande nucleo vescicolare colla cromatina disposta a reticolo regolare, non differenti per altro dalle normali cellule epiteliali proprie del timo, hanno la particolare tendenza, come constatò già Pensa (2) nella rana normale, a disporsi attorno ai capillari sanguigni, immediatamente allo esterno delle cellule endoteliali, analogamente a quanto si verifica in altre formazioni, per le quali è ben dimostrata una secrezione interna. Esse presentano talvolta nel loro citoplasma numerosi granuli di varie dimensioni, che si colorano intensamente in rosso colla saffranina e col metodo di Galeotti, in bleu intenso colla ematossilina ferrica di Heidenheim.

In progresso di tempo la parte che le cellule epiteliali hanno nella costituzione della sostanza midollare va facendosi sempre maggiore e alla distanza di circa due mesi dalla perfusione esse sono così numerose e addossate le une alle altre da non lasciar più distinguere la disposizione a manicotto attorno ai vasi; perchè da esse solo quasi si può dire composto il tessuto costitutivo della sostanza midollare. La sostanza corticale è invece estremamente ridotta ed è formata solo da uno strato sottilissimo di cellule di carattere linfoide.

In queste condizioni l'esame morfologico degli strisci di timo, colorati con *May-Grünwald-Giemsa* dimostra la presenza di cellule, che hanno tutti i caratteri dei linfociti e molte delle quali sono in picnosi, di qualche cellule immatura del sangue (mieloblasti, eritroblasti basofili, che mancano negli strisci delle rane di controllo, e di cellule grandi tondeggianti ed ovoidali, con protoplasma lievemente basofilo con nucleo grande e vescicolare, colla cromatina disposta a reticolo grosso e regolare.

Nella interpretazione di questi reperti è degno di nota il fatto che il timo, già completamente involuto, acquista dopo la sostituzione del sangue con una soluzione salina, l'aspetto di un organo attivamente funzionante. La presenza di cellule mieloidi immature del sangue negli strisci di timo della rana salata dimostra che quest'organo, nelle condizioni ora dette, è in grado di esercitare se pure in scarsa misura, anche una funzione granulocitpoietica ed eritropoietica.

Il fatto poi che le modificazioni più manifeste nella costituzione morfologica del timo sono determinate dalla iperplasia delle cellule epi-

(2) Pensa A. - *Anat. Anzeiger*, 1905, **27**, 524.

teliali proprie dell'organo, che non danno origine a corpuscoli del sangue, fa pensare che, nei processi della rigenerazione del sangue della rana salata, il timo intervenga non solo direttamente, come organo eritropoietico ma anche indirettamente, forse mediante la sua secrezione interna.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXX° — Fasc. 2°

INFLUENZA DEL SISTEMA NERVOSO AUTONOMO SULLA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

Dott. Pietro Livraga
Assistente.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

Un indirizzo nuovo nello studio del determinismo della coagulazione del sangue è segnato dalle ricerche dirette a stabilire le modificazioni che il sistema nervoso autonomo può indurre sulla coagulabilità del sangue. Ma, a questo proposito, si trovano nella letteratura solo dati frammentari, desunti sia dai risultati della stimolazione elettrica del vago e del simpatico, sia da quelli di prove farmacologiche.

Le prime ricerche sono di Vosburg e Richards (1). Questi Autori, già nel 1903, studiando nel cane il decorso della iperglicemia adrenalinica, notarono che, in concomitanza con l'aumento del glucosio nel sangue, la coagulazione di questo avveniva più rapidamente. In alcuni casi, dopo iniezione intraperitoneale di 1 cm.^{3} di adrenalina all'1 %, il tempo di coagulazione diminuiva dei 4/5 in confronto dei controlli. E poichè analoghi risultati ottennero pennelleggiando con adrenalina la superficie del pancreas, essi conclusero che il fenomeno sembrava esser dovuto all'azione diretta dell'adrenalina sull'organo.

Van den Velden (2), in uno studio clinico sul potere di emostasi dell'adrenalina sintetica, osservò in trenta casi un acceleramento della coagulazione del sangue, rilevabile ancora da una a tre ore dopo ch'egli aveva somministrato la sostanza per bocca o per via ipodermica o l'aveva applicata sulla mucosa del naso. Egli riferisce pure che l'adrenalina in dosi di circa 0,007 mg per kg di peso del corpo diminuisce nell'uomo il tempo di coagulazione di circa la metà: tale effetto si ha dopo 11′ se il farmaco è dato per bocca, e dopo 85′ se

iniettato sotto cute. L'Autore afferma, senza descriverne le condizioni sperimentali nè dare cifre, che l'adrenalina fa diminuire il tempo di coagulazione anche in vitro. Non crede tuttavia di concludere che essa esplichi un'azione diretta sul sangue, ma pensa piuttosto che agisca in virtù della vasocostrizione generale, la quale richiamerebbe nei vasi, i succhi dei tessuti, a proprietà ipercoagulante ben nota.

Successivamente Cannon e Gray (3) richiamarono l'attenzione sul fatto che nei gatti eterizzati e più ancora nei gatti scerebrati, l'adrenalina iniettata in piccole dosi nelle vene (0,001 mg per kg) ed in dosi elevate (1 mg per kg) sottocute, riduce la durata del tempo di coagulazione alla metà o a un terzo del valore normale. Questi effetti sono palesi per circa mezz'ora. Ma se si aumenta la dose a 0,03 mg circa per kg, sempre per via endovenosa, si ha solo un aumento, oppure prima un aumento e poi una diminuzione. Confinando la massa sanguigna al di sopra del diaframma mediante legatura dell'aorta e della cava, oppure asportando in precedenza il fegato e l'intestino, piccole dosi di adrenalina non esplicano più l'azione già ricordata. E siccome d'altronde l'aggiunta, in piccola misura, al sangue in vitro non determina l'ipercoagulabilità, come pure è senza effetto un'iperglicemia del 0,3-0,4%; gli Autori ne deducono che l'adrenalina accelera il processo della coagulazione, stimolando il fegato o l'intestino a versare in circolo uno od alcuni fattori a proprietà ipercoagulanti.

Grabfield (4), che nello stesso laboratorio, studiò pure nel gatto le cause dell'acceleramento della coagulazione sotto l'influenza di piccole dosi di adrenalina (0,143 cm^3 di una soluzione 1/100.000 per kg del peso del corpo) conclude che le modificazioni accennate sono dovute ad un aumento di protrombina nel sangue circolante. Il Grabfield non avrebbe constatato variazioni nella quantità di antitrombina e di fibrinogeno.

Takasaki (5) osservò in cinque conigli un rallentamento nella coagulazione dopo iniezioni sottocutanee di 0,5-1 cm^3 di una soluzione di adrenalina all'1 % (l'effetto era massimo 1-1 $^1/_2$ ora dopo) e Hirayama (6), sperimentando pure su conigli normali e su altri splancnectomizzati due settimane prima, confermò l'acceleramento della coagulazione per dosi di 0,01-0,03 mg per kg del peso del corpo iniettati nelle vene a velocità costante (circa 1 cm^3 ogni 30''). Gli Autori si sono serviti per le loro ricerche del metodo capillare di registrazione grafica di Cannon e Mendenhall, modificato da Takasaki, operando alla temperatura di 25°.

Ma in contrasto con i lavori fin qui ricordati, che testimoniano di una netta azione acceleratrice della adrenalina sul processo della coagulazione del sangue, ricorderò che WIGGERS (7), già nel 1909, dopo parecchie prove su 5 cani, non trovò affatto che l'adrenalina in vivo od in vitro acceleri in modo apprezzabile tale fenomeno. Sull'uomo, mentre non agisce nelle enterorragie, riuscirebbe vantaggiosa nelle pneumorragie.

DALE e LAIDLOW (8) non osservarono, sempre sull'uomo, ipercoagulabilità, somministrando adrenalina per bocca, HOWEL (9), riferisce anzi che, per iniezioni di dosi elevate di adrenalina si può giungere financo ad un vero stadio di emofilia sperimentale e il GRABFIELD (4), come già CANNON e GRAY (3), nota per forti dosi un ritardo nella coagulazione.

HIRAYAMA (6) afferma pure nel lavoro già citato che nel coniglio le piccole dosi endovenose (0,001-0,005 mg per kg del peso del corpo) come le forti (0,05-0,1 mg per kg) ritardano piuttosto la coagulazione. Questo fatto si verificherebbe più di frequente negli animali splancnectomizzati, che nei normali, in cui si hanno maggiori oscillazioni.

LA BARRE (10) però, in questi ultimi anni, volendo verificare la veridicità dell'asserto che già le dosi cliniche favorissero le emorragie secondarie, ciò che pareva rafforzato dai risultati sperimentali di HIRAYAMA, ribadisce la conclusione di CANNON e della sua scuola e degli altri Autori, riaffermando che nei cani le piccole dosi (0,008-0,012 mg per kg) non danno modificazione e le medie (0,015-0,05 mg per kg) danno un accorciamento del tempo di coagulazione (da 16′ a 8′ con massimo $^1/_2$-2 ore dopo l'iniezione) per una più rapida trasformazione del prosierozima in sierozima e per una più precoce e forse più abbondante produzione di trombina e solo le submortali (0,1-0,2 mg per kg) un allungamento per la penetrazione in circolo di una maggiore quantità di antitrombina. In vitro nessuna modificazione nella coagulabilità del sangue. TURCATTI (11) osserva pure una ipercoagulabilità, dopo iniezioni d'adrenalina, ch'egli riferisce ad azioni tromboplastiche da splenocontrazione, laddove PARTOS e SVEC (12) vorrebbero spiegare il fenomeno più come dipendente dall'iperglicemia.

Recentissimamente TANAKA (13) comunica pure che dosi di 0,001-0,01 mg per kg di adrenalina iniettati nelle vene, accorciano il tempo di coagulazione di $^1/_2$ o $^1/_3$, ciò che sarebbe dovuto ad un aumento della trombina e del fibrinogeno e ad una diminuzione del-

l'antitrombina: mentre per dosi elevate si ha prima un allungamento e poi di nuovo una diminuzione del tempo di coagulazione per aumento del fibrinogeno e della trombina e diminuzione dell'antitrombina.

Di fronte ad un numero così elevato di lavori riguardanti l'azione dell'adrenalina, si trovano nella letteratura solo pochi dati che si riferiscono agli effetti delle iniezioni di pilocarpina e d'atropina. In riguardo alla pilocarpina rammenterò i lavori recenti di Tanaka (14) il quale vide dopo iniezioni endovenose di 0,001-0,01 mg per kg allungarsi il tempo di coagulazione: aumentavano il fribrinogeno e l'antitrombina e diminuiva la trombina. Per quanto riguarda l'atropina Doyon e Kareff (15) avrebbero osservato che l'iniezione in un ramo della vena porta o dell'arteria epatica o del coledoco mantiene liquido il sangue da 1 ora a 2 o 3 giorni. Tali risultati sono dovuti secondo gli autori ad una scarica di antitrombina in circolo da parte del fegato e mancherebbero se la sostanza è iniettata nella giugulare o nella safena. L'atropina poi favorisce la coagulazione del sangue in dosi di 0,003-0,001 g per kg, mentre l'ostacola notevolmente con 0,03-0,05 g per kg. Oltre all'azione dei farmaci che agiscono sul sistema nervoso autonomo, furono studiati gli effetti della stimolazione diretta del vago o del simpatico. E così Cannon e Mendenhall (16) in gatti eterizzati e narcotizzati con uretano trovavano che la stimolazione unilaterale dello splancnico nell'addome, uni o bilaterale nel torace, protratta per 1′,30″ e praticata con correnti tetanizzanti appena percepibili alla lingua o deboli da causare appena qualche contrazione dei muscoli scheletrici, determina una ipercoagulabilità del sangue. Grado e durata dell'effetto variano; spesso i tempi di coagulazione si riducono a meno di metà e le variazioni persistono per 10′ a 30′; in successivi esperimenti sullo stesso animale le variazioni si fanno sempre meno palesi. Asportando poi le surrenali da un lato, la stimolazione dello splancnico omolaterale è senza effetto, mentre è ancor efficace dall'altro lato. Gli Autori ne concludono che l'ipercoagulabilità ricordata è testimone di una scarica d'adrenalina in circolo, la quale agirebbe a sua volta sul fegato e sull'intestino. Di fatti la stimolazione diretta dei nervi che vanno a questi organi non dà modificazioni evidenti della coagulabilità del sangue. La diversità d'effetti nei vari animali è da attribuirsi al diverso contenuto di adrenalina nelle loro surrenali. Popielski (17) vide allungarsi nel cane il tempo di coagulabilità del sangue delle vene defluenti dalla ghiandola sottomascellare in seguito a stimolazione sia della corda del timpano, sia del simpatico al collo.

Plattner e Kodera (18) in esperimenti su conigli e cani, giunsero alla conclusione che il tempo di coagulazione, determinato col metodo di Bürker è notevolmente aumentato (dal 12,5% all'80%) dall'eccitamento del moncone periferico del vago al collo. Così pure Czubalski e Szulc (19) affermano che il simpatico accelera la coagulazione del sangue, mentre il parasimpatico la ostacola.

Come risulta da questa rivista bibliografica, le ricerche compiute sull'influenza del sistema nervoso autonomo sulla coagulazione del sangue sono spesso frammentarie ed i risultati ottenuti non sono sempre concordanti. Ho pensato perciò di studiare in modo sistematico la questione, non limitando l'osservazione al tempo di coagulazione, ma estendendo le indagini anche alla determinazione della trombina, del fibrinogeno e dell'antitrombina. Eseguii tutte queste determinazioni prima e dopo la stimolazione del vago al collo o dello splancnico nell'addome oppure prima e dopo l'iniezione endovenosa di farmaci che agiscono elettivamente sul sistema nervoso autonomo (adrenalina, atropina, pilocarpina, ergotamina).

II. — Tecnica.

Adoperavo come animali da esperimento cani preferibilmente di grossa taglia. Determinavo il tempo di coagulazione del sangue seguendo il metodo di Feissly (41). Secondo tale metodo si raccolgono mediante una cannula paraffinata innestata in un'arteria dell'animale 5 cm^3 di sangue in un recipiente cilindrico di vetro di 25 mm di diametro e di 50 mm di altezza paraffinato internamente con una miscela di due parti di paraffina fusibile a 54° e una parte di olio neutro di paraffina. Sul sangue si versa olio di paraffina fino a formare uno strato di 2-3 mm di spessore. Si chiude il recipiente con un tappo di sughero attraversato da due tubi di vetro di 3 mm di diametro, di cui l'uno si trova esattamente nell'asse del tappo e l'altro più all'esterno; all'estremo inferiore del primo tubo ne è saldato un secondo di 5 mm di diametro e di 30 mm. di lunghezza, che è paraffinato e pesca nel sangue; il secondo tubo invece giunge appena sotto il tappo e non pesca nel sangue. Con questo ultimo tubo si possono insufflare piccole quantità di aria nel recipiente mediante una minuscola pera di gomma e le escursioni del sangue nel primo tubo si possono osservare riprodotte in un manometro a U con esso collegato e contenente petrolio colorato. Il recipiente col sangue si tiene immerso in un bagno di

acqua a 35°, si preme periodicamente sulla pera di gomma ogni 1′, osservando le oscillazioni nel manometro. Queste dapprima ampie, diminuiscono rapidamente fino a diventare minime. Il sangue è allora coagulato completamente e le piccole oscillazioni che si osservano nel manometro sono dovute all'elasticità del coagulo.

Dosavo la trombina, seguendo il metodo di Wohlgemuth (42) nel modo seguente: raccoglievo in un tubo da centrifuga 10 cm^3 di sangue che lasciavo coagulare spontaneamente, e ne separavo il siero per centrifugazione. Ponevo 1 cm^3 di Na Cl all'1% in 12 provette, eccetto che nella prima, nella quale ponevo 1 cm^3 di siero, aggiungevo quindi 1 cm^3 di siero nella seconda provetta e lo mescolavo con la soluzione di Na Cl già presente, trasportavo 1 cm^3 del miscuglio nella terza provetta, poi 1 cm^3 del contenuto di questa provetta nella quarta e così via, in modo d'avere diluizioni crescenti di siero secondo una progressione geometrica: 1, 2, 4, 8... In questa progressione la ragione è sempre uguale a 2. Infine dall'ultima provetta, dopo aver ben mescolato il liquido toglievo 1 cm^3. Aggiungevo poi in tutte le provette 2 cm^3 di soluzione. Questa era ottenuta centrifugando a lungo un miscuglio costituito da tre parti di sangue con una di solfato di magnesio al 28% (Plasma solfatato secondo A. Schmidt). Al momento dell'uso si diluiva 10 volte con Na Cl all'1%. Il plasma salato, limpido decantato in una bottiglia ben pulita, era conservato in ghiacciaia e rinnovato ogni settimana. Ponevo poi le provette in ghiacciaia e dopo 24 ore, ricercavo in quale provetta v'era un coagulo ancora bene apprezzabile. Posta uguale ad una quantità di trombina, la quantità più piccola di essa capace di dare ancora un coagulo, il numero di unità di trombina contraddistinte col simbolo Ff e contenute in 1 cm^3 del siero in esame era dato direttamente da quella diluizione del siero che era ancora capace di dare il coagulo.

Dosavo il fibrinogeno servendomi del metodo gravimetrico di Foster e Wipple (44). In un palloncino tarato da 25 cm^3 ponevo 2,5 cm^3 di ossalato di Na all'1 % e portavo a volume col sangue in esame. Centrifugavo poi per $^1/_2$ ora sino ad ottenere il plasma limpido; ne prelevavo 2 cm^3 che ponevo in un bicchiere contenente 4 cm^3 di Na Cl, 0,8% e 2 cm^3 di Ca Cl, 2,5%. Rimescolavo bene e lasciavo a sè per 2 ore a temperatura ambiente. In questo frattempo il liquido coagulava rapprendendosi in una fine ragnatela di fibrina. Lavavo allora più volte con acqua distillata il coagulo, lo trasportavo su carta da filtro Schleicher e Schull 575, ne spremevo con bacchetta di vetro tutta l'acqua fino ad ottenere un grumetto

bianco di fibrina, che deponevo sul fondo di un crogiuolo di porcellana e portavo a secco a 110° fino a peso costante. Incenerivo allora il coagulo e ripesavo. La differenza fra le due pesate dava la quantità di fibrinogeno contenuta nel plasma in esame.

Dosavo l'antitrombina col metodo di Howell e Hess (43) adoperando il plasma che rimaneva dopo prelevati i 2 cm^3 necessari per il dosaggio del fibrinogeno. Come operazione preliminare ponevo in 4 provette 5 gocce di plasma ossalato ottenuto dal sangue prelevato dal cane prima dell'esperimento e a quelle aggiungevo rispettivamente 2, 3, 4, 5 gocce di una soluzione di Ca Cl_2 al 0.5%. È questa la prova così detta di coagulabilità generale, che stabilisce il numero di goccie della soluzione di Ca Cl_2 ottimo da aggiungere al plasma per ottenere la coagulazione completa. Successivamente in 5 provette mettevo 5 goccie del plasma ossalato ottenuto prima dell'esperimento. Ponevo poi il plasma rimanente e quello pure ossalato ottenuto dal sangue che prelevavo dopo l'esperimento in due provette distinte, scaldato il tutto per un quarto d'ora a bagno-maria a 60° per far coagulare la protrombina e il fibrinogeno e filtravo. I filtrati limpidi costituivano soluzioni praticamente pure di antitrombina. Ponevo allora nella prima e nella seconda delle 5 provette, contenenti ciascuna le 5 goccie di plasma ossalato normale rispettivamente 3 e 5 goccie della soluzione di antitrombina preparata dal plasma ottenuto prima dell'esperimento; nella terza e nella quarta provetta ponevo parimenti 3 e 5 goccie della soluzione di antitrombina preparata dal plasma ottenuto dopo l'esperimento e tenevo la quinta provetta come controllo; infine portavo il liquido in tutte le provette ad ugual volume aggiungendo dove era necessario, goccie di una soluzione di Na Cl all'1% e, dopo aver rimescolato lasciavo il tutto a sè per 15'. Ricalcificavo quindi liquidi col numero ottimo di goccie di soluzione di Ca Cl_2 stabilito in antecedenza e determinavo i tempi di coagulazione inclinando ogni 30'' le singole provette e notando in quale di esse il liquido rimaneva immobile essendosi rappreso il coagulo gelatinoso. Le variazioni della quantità di antitrombina erano date dalla differenza fra i tempi di coagulazione nella terza e nella quarta provetta e quelli nella prima e nella seconda.

I campioni di sangue per i vari dosaggi erano raccolti dall'animale digiuno da 12 ore mediante una cannula paraffinata innestata nella carotide la cui parete prima di esser tagliata veniva spalmata con olio di paraffina.

La stimolazione del vago al collo o degli splancnici nell'addome

era eseguita colla corrente faradica sul moncone periferico dei nervi, tenuto sollevato dai tessuti circostanti mediante appositi elettrodi di platino.

Le iniezioni di adrenalina (Parke Davis e Co) atropina, pilocarpina e ergotamina (Gynergen Sandoz) erano praticate direttamente nella vena femorale.

III. — Risultati sperimentali.

Qui appresso sono raccolti i protocolli dei singoli esperimenti da me compiuti.

Esperimenti eseguiti sui cani normali.

Esperimento 1. — 11 marzo 1929. — Cane lupo kg 17.

Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	28′	28′
Fibrinogeno % di plasma	0,35	0,35
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	6′	5′
» 5 goccie	9′	9′

Esperimento 2. — 16 marzo 1929. — Cane pointer kg 14.

Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	21′	21′
Fibrinogeno % di plasma	0,44	0,47
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	5′
» 5 goccie	5′	6′

Esperimento 3. — 25 marzo 1929. — Cagna lupa kg 15,5.

Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	18′	19′
Fibrinogeno % di plasma	0,29	0,29
Trombina	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′	3′
» 5 goccie	7′	5′

Esperimento 4. — 28 marzo 1929. — Cane spinone kg. 12.

Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	27′	27′
Fibrinogeno % di plasma	0,35	0,35
Trombina	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	4′	5′
» 5 goccie	4′	5′

Esperimento 5. — 9 aprile 1929. — Cane tipo fox-terrier kg 7.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,05 di cloridrato di morfina.
Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	20′	19′
Fibrinogeno % di plasma	0,41	0,40
Trombina	256	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	8′	8′
» 5 goccie	8′	7′

Esperimento 6. — 15 aprile 1929. — Cane tipo fox-terrier kg 11.

Ore 14. — Iniezione sottocutanea di gr 0,05 di cloridrato di morfina.

Ore 16. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 17,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	25′	23′
Fibrinogeno % di plasma	0,39	0,39
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	4′	4′
» 5 goccie	4′	5′

Esperimento 7. — 24 aprile 1929. — Cane lupo kg 15.

Ore 14. — Iniezione sottocutanea di gr 0,10 di cloridrato di morfina.

Ore 16. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 17,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	17′	17′
Fibrinogeno % di plasma	0,23	0,25
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	8′
» 5 goccie	9′	7′

Esperimenti eseguiti stimolando i vaghi al collo.

Esperimento 8. — 7 maggio 1929. — Cane kg 19.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,16 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,50. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,40. — Stimolazione dei due vaghi al collo colla corrente faradica per 20′.

Ore 12. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	22′	22′
Fibrinogeno % di plasma	0,33	0,32
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	—	—
» 3 goccie	—	—
» 5 goccie	—	—

Esperimento 9. — 24 maggio 1929. — Cane kg 17.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,16 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11. — Stimolazione dei due vaghi al collo colla corrente faradica per 20′.

Ore 11,40. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	22′	21′
Fibrinogeno % di plasma	0,29	0,31
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′	3′
» 5 goccie	4′	3′

Esperimento 10. — 6 giugno 1929. — Cane kg 15.

Ore 14. — Iniezione sottocutanea di gr 0,12 di cloridrato di morfina.

Ore 15,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 17. — Stimolazione del vago destro con DR = 10 cm per 10′. Interruzione della stimolazione ogni 2″ mediante metronomo. Non si ha arresto del cuore.

Ore 17,10. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	19′	19′
Fibrinogeno % di plasma	0,34	0,33
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	4′	4′
» 5 goccie	5′	5′ 30″

Esperimento 11. — Cane kg 19.

Ore 9. — Preparazione dell'animale. Iniezione sottocutanea di gr 0,12 di cloridrato di morfina.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,30. — Stimolazione dei due vaghi al collo con DR = o per 10′. Interruzione della stimolazione ogni 2″ mediante metronomo. Non si ha arresto del cuore.

Ore 11,40. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	22′	21′
Fibrinogeno % di plasma	0,40	0,40
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	5′
» 5 goccie	6′	6′ 30″

Esperimento 12. — 13 giugno 1929. — Cane kg 13.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,08 di cloridrato di morfina.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,20. — Stimolazione dei due vaghi al collo con DR = o continuamente per 10′. Arresto del cuore.

Ore 11,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	23′	24′
Fibrinogeno % di plasma	0,35	0,35
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	7′	6′
» 5 goccie	7′	8′

Esperimento 13. — 22 giugno 1929. — Cane kg 17.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,08 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,30. — Stimolazione dei due vaghi al collo con RD= o continuamente per 10′. Arresto del cuore.

Ore 11.40. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	20′	22′
Fibrinogeno % di plasma	0,40	0,40
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	5′	5′
» 5 goccie	8′	6′

Esperimento 14. — 2 luglio 1929. — Cagna kg 13.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,08 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 11. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,50. — Stimolazione dei due vaghi separati dalle fibre simpatiche con DR = o continuamente per 10′. Arresto del cuore.

Ore 12. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	24′	24′
Fibrinogeno % di plasma	0,32	0,32
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′	3′
» 5 goccie	4′ 30″	4′

Esperimento 15. — 6 luglio 1929. — Cane kg 11.

Ore 14. — Iniezione sottocutanea di gr 0,06 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 15,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 16,30. — Stimolazione dei due vaghi, separati dalle fibre simpatiche con DR = o continuamente per 20′. Arresto del cuore.

Ore 16,50. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	21′	22′
Fibrinogeno % di plasma	0,38	0,39
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′ 30′	4′
» 5 goccie	6′	6′

Esperimento 16. — 8 luglio 1929. — Cane kg 13.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,10 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,30. — Stimolazione dei due vaghi al collo con DR = o continuamente per 20′. Arresto del cuore.

Ore 11,50. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	24′	26′
Fibrinogeno % di plasma	0,40	0,44
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	6′
» 5 goccie	7′	6′

Esperimenti eseguiti stimolando gli splancnici nell'addome.

Esperimento 17. — 30 giugno 1929. — Cane kg 18,5.

Ore 8,30. — Iniezione sottocutanea di gr 0,18 di cloridrato di morfina. Preparazione delle due carotidi al collo.

Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 10,30. — Preparazione degli splancnici appena sotto il diaframma.

Ore 12,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	26′	25′
Fibrinogeno % di plasma	0,37	0,39
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	7′	6′ 30″
» 5 goccie	7′	7′

Esperimento 18. — 13 luglio 1929. — Cane kg 14.

Ore 8,30. — Iniezione sottocutanea di gr 0,10 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 11. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,50. — Stimolazione meccanica degli splancnici.
Ore 12. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	24′	24′
Fibrinogeno % di plasma	0,40	0,40
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	5′
» 5 goccie	7′	6′ 30″

Esperimento 19. — 15 luglio 1929. — Cagna kg 19.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,19 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.
Ore 11. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11,50. — Stimolazione dello splancnico con DR = o continuamente per 10′.
Ore 12. — Si raccoglie il II campione di sangue.
Ore 14,5. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuamente per 10′.
Ore 14,15. — Si raccoglie il III campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue	III campione di sangue
Tempo di coagulazione	25′	25′	23′
Fibrinogeno % di plasma	0,42	—	0,41
Trombina Ff	192	—	192
Antitrombina 0	4′	—	4′
» 3 goccie	5′	—	5′
» 5 goccie	8′	—	8′

Esperimento 20. — 18 luglio 1929. — Cane kg 16.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,16 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.
Ore 11. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11,35. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuamente per 10′. Milza contratta per tutto il tempo dell'eccitamento. Peristalsi intestinale arrestata. Midriasi.

Ore 11,45. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	19′	16′
Fibrinogeno % di plasma	0,43	0,40
Trombina Ff	128	192
Antitrombina 0	6′	6′
» 3 goccie	8′	7′
» 5 goccie	8′	8′

Esperimento 21. — 31 ottobre 1929. — Cane kg 17.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,16 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,20. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuatamente per 10′. Splenocontrazione; ipoperistalsi intestinale. Midriasi.

Ore 11,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	23′	22′
Fibrinogeno % di plasma	0,41	0,42
Trombina Ff	192	192
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	5′
» 5 goccie	6′	7′

Esperimento 22. — 7 novembre 1929. — Cane kg 14.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,12 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,15. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuamente per 20′. Milza contratta. Peristalsi intestinale assente. Midriasi.

Ore 11,35. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	27′	26′
Fibrinogeno % di plasma	0,38	0,36
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	6′
» 5 goccie	8′	7′

Esperimento 23. — 3 dicembre 1929. — Cane kg 15.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,16 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 10,30. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,20. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuamente per 20′.

Ore 11,40. — Si raccoglie il II campione di sangue. Milza contratta. Assenza di peristalsi intestinale. Midriasi spiccata.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	26′	26′
Fibrinogeno % di plasma	0,31	0,30
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	6′	6′
» 3 goccie	7′	5′
» 5 goccie	7′	7′

Esperimento 24. — 5 dicembre 1929. — Cane kg 21.

Ore 9. — Iniezione sottocutanea di gr 0,20 di cloridrato di morfina. Preparazione dell'animale.

Ore 11. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 11,40. — Stimolazione dei due splancnici con DR = o continuamente per 15′.

Ore 12. — Si raccoglie il II campione di sangue. Splenocontrazione. Peristalsi intestinale assente. Midriasi.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	21′	22′
Fibrinogeno % di plasma	0,42	0,40
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	7′
» 5 goccie	7′	7′

Esperienze eseguite colla pilocarpina.

Esperimento 25. — 18 giugno 1929. — Cane kg 18,500.

Ore 9. — Preparazione dell'animale.
Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Iniezione di mg 19 di pilocarpina nella v. femorale. Scialorrea, lagrimazione, polso raro, scosse cloniche.
Ore 11,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	22′	31′
Fibrinogeno % di plasma	0,29	0,40
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	4′	4′
» 5 goccie	6′	8′

Esperimento 26. — 25 giugno 1929. — Cane kg 17.

Ore 9. — Preparazione dell'animale.
Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Si iniettano mg 17 di pilocarpina nella v. femorale.
Ore 11,20. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	25′	34′
Fibrinogeno % di plasma	0,30	0,40
Trombina Ff	256	192
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	4′	6′
» 5 goccie	5′	8′

Esperimento 27. — 4 luglio 1929. — Cane kg. 7.

Ore 9. — Preparazione dell'animale.
Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Si iniettano mg 7 di pilocarpina nella v. femorale. Modica scialorrea. Contrazioni fibrillari.

Ore 11,10. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	26′	26′
Fibrinogeno % di plasma	0,38	0,37
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′	4′
» 5 goccie	4′	4′

Esperimento 28. — 27 novembre 1929. — Cane kg 10.

Ore 9. — Preparazione dell'animale.
Ore 10. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 11. — Iniezione di mg 10 di pilocarpina nella v. femorale. Scialorrea, lagrimazione.
Ore 11,20. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	22′	33′
Fibrinogeno % di plasma	0,37	0,45
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	5′
» 5 goccie	7′	12′

Esperimento 29. — 4 dicembre 1929. — Cane kg 11.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Si iniettano mg 11 di pilocarpina nella v. femorale.
Ore 16,30. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	25′	24′
Fibrinogeno % di plasma	0,32	0,30
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	5′	6′
» 5 goccie	6′	6′

Esperimento 30. — 7 dicembre 1929. — Cane kg 16.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 16 di pilocarpina nella v. femorale.
Ore 16,50. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	20′	29′
Fibrinogeno % di plasma	0,47	0,56
Trombina Ff	128	128
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′	8′
» 5 goccie	7′	11′

Esperimenti eseguiti coll'adrenalina.

Esperimento 31. — 20 dicembre 1929. — Cane kg 16,5.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 0,34 di cloridrato di adrenalina nella v. femorale.
Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	27′	15′
Fibrinogeno % di plasma	0,45	0,42
Trombina Ff	128	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	5′
» 5 goccie	8′	7′ 30″

Esperimento 32. — 24 gennaio 1930. — Cane kg 20.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 0,4 di cloridrato di adrenalina nella v. femorale.

Ore 16,20. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	23′	7′
Fibrinogeno % di plasma	0,34	0,38
Trombina Ff	128	256
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	7′	5′
» 5 goccie	8′	8′

Esperimento 33. — 21 dicembre 1929. — Cane kg 12.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.

Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 16. — Iniezione di mg 0,24 di cloridrato di adrenalina nella v. femorale.

Ore 16,20. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	29′	6′
Fibrinogeno % di plasma	0,39	0,36
Trombina Ff	256	1024
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	3′	3′
» 5 goccie	7′	5′

Esperimenti eseguiti coll'atropina.

Esperimento 34. — 9 dicembre 1929. — Cane kg 17.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.

Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 16. — Iniezione di mg 17 di solfato d'atropina nella v. femorale.

Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	26′	15′
Fibrinogeno % di plasma	0,34	0,37
Trombina Ff	128	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	5′	4′
» 5 goccie	7′	5′

Esperimento 35. — 11 dicembre 1929. — Cagna kg 15.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 15 di solfato d'atropina nella v. femorale.
Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	28′	19′
Fibrinogeno % di plasma	0,38	0,36
Trombina Ff	256	512
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	6′	5′
» 5 goccie	7′	5′

Esperimento 36. — 16 dicembre 1929. — Cane di kg 20.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 20 di solfato d'atropina nella v. femorale.
Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	23′	15′
Fibrinogeno % di plasma	0,37	0,32
Trombina Ff	256	512
Antitrombina 0	5′	5′
» 3 goccie	7′	3′
» 5 goccie	8′	5′

Esperimenti eseguiti coll'ergotamina.

Esperimento 37. — 27 gennaio 1930. — Cane di kg 7,5.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.
Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.
Ore 16. — Iniezione di mg 7 di tartrato d'ergotamina nella v. femorale.

Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	21′	28′
Fibrinogeno % di plasma	0,29	0,38
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	4′ 30″	6′
» 5 goccie	6′	8′

Esperimento 38. — 29 gennaio 1930. — Cane kg 6.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.

Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 16. — Iniezione di mg 3 di tartrato di ergotamina nella v. femorale.

Ore 16,15. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	21′	32′
Fibrinogeno % di plasma	0,32	0,46
Trombina Ff	256	192
Antitrombina 0	4′	4′
» 3 goccie	5′ 30″	5′
» 5 goccie	9′	8′

Esperimento 39. — 6 febbraio 1930. — Cane kg 8.

Ore 14. — Preparazione dell'animale.

Ore 15. — Si raccoglie il I campione di sangue.

Ore 16. — Iniezione di mg 8,5 di tartrato di ergotamina nella v. femorale.

Ore 16,20. — Si raccoglie il II campione di sangue.

	I campione di sangue	II campione di sangue
Tempo di coagulazione	24′	33′
Fibrinogeno % di plasma	0,38	0,46
Trombina Ff	256	256
Antitrombina 0	3′	3′
» 3 goccie	4′	6′
» 5 goccie	7′ 30″	10′

IV. — Discussione dei risultati sperimentali.

Dai protocolli degli esperimenti risulta che la stimolazione con corrente faradica dei monconi periferici dei due vaghi, praticata al collo; come pure quella dei monconi periferici degli splancnici, praticata subito al disotto del diaframma, non determinano variazioni aprezzabili del tempo di coagulazione del sangue. Ben diverso è l'effetto delle iniezioni di farmaci che agiscono in modo elettivo sul sistema nervoso autonomo.

L'adrenalina, iniettata endovena nella dose di mg 0,02 per kg del peso del corpo determina un abbreviamento netto del tempo di coagulazione che si riduce fino a 1/5 del normale e un aumento della trombina che si raddoppia o si triplica mentre l'antitrombina diminuisce leggermente e il fibrinogeno praticamente non varia.

La pilocarpina, iniettata nella safena in dose di mg 1 per kg di peso del corpo determina un aumento fin dalla metà del tempo di coagulazione e un aumento fin del terzo del fibrinogeno, mentre la trombina non varia (la diminuzione nell'esp. 26 è forse dovuta ad un errore di analisi) e la antitrombina di solito aumenta.

L'atropina, iniettata nella safena in dose di 1 mg per kg di peso del corpo abbrevia il tempo di coagulazione a 2/3 o a 3/5 del normale, raddoppia la trombina, fa diminuire un po' l'antitrombina e non modifica il fibrinogeno.

Infine l'ergotamina iniettata nella safena in dose di mg 1-0,5 per kg di peso del corpo fa aumentare il tempo di coagulazione fin della metà e il fibrinogeno di un quarto, fin quasi della metà fa pure aumentare l'antitrombina, mentre non modifica la trombina.

I risultati negativi da me ottenuti colla stimolazione dei vaghi o degli splancnici non si accordano con quelli ottenuti da Cannon e Mendenhall (16), Czubalski e Szulc (19), i quali trovano una riduzione del tempo di coagulazione anche a meno della metà nella stimolazione del simpatico, di Plattner e Kodera (18), Czubalski e Szulc (19), i quali trovavano un allungamento del 12,5%-80% in quella del vago.

Per quanto riguarda la stimolazione degli splancnici, nei miei esperimenti, questi nervi erano certamente eccitati, come era dimostrato dalla contrazione della milza, sempre direttamente constatabile, dall'arresto della peristalsi intestinale e della midriasi, imputabile a

versamento in circolo di adrenalina per eccitamento delle capsule surrenali.

Se non ostante l'aumentata adrenalinemia non si modificava praticamente il tempo di coagulazione, ciò si doveva attribuire al fatto che la quantità di adrenalina che si versava in circolo per effetto della stimolazione degli splancnici era molto minore di quella che può influire sul tempo di coagulazione. Infatti secondo TOURNADE e CHABROL (24) nella stimolazione faradica dello splancnico nel cane, la quantità di adrenalina nel sangue giunge in media a mg 0, 006 per kg del peso del corpo mentre la quantità efficace nei miei esperimenti era almeno tre volte maggiore cioè mg 0,02 per kg del peso del corpo.

La stimolazione dei vaghi non fu seguita parimenti da alcuna modificazione del tempo di coagulazione. A questo proposito devo ricordare che nei primi esperimenti da me eseguiti stimolavo il tronco vago-simpatico al collo. I risultati negativi mi avevano fatto pensare che essi fossero dovuti a una neutralizzazione reciproca degli effetti dell'eccitamento dei due nervi (TOURNADE e CHABROL, [24]). Pensai perciò di isolare il vago dal suo involucro di fibre simpatiche e di stimolare solo il primo. Però anche con questo accorgimento e per quanto ben manifesti fossero i fenomeni dell'eccitamento del vago, non mi fu possibile notare variazioni apprezzabili nella coagulazione del sangue. PLATTNER e KODERA e così pure CZUBALSKI e SZULC sostengono invece che il vago esplichi un'azione inibitrice sulla coagulazione del sangue. Ma se si esaminano i dati riportati dai primi Autori si constata che l'allungamento del tempo di coagulazione si riduce a mezzo minuto solo su tre o quattro, senza tener conto che i numerosi salassi praticati sugli animali influiscono certamente sul tempo di coagulazione (VIALE [25] e CORTESE [26]).

La conclusione che si può trarre dai risultati di questi esperimenti è che lo stimolo elettrico dei nervi vago e simpatico non è quello adeguato, in riguardo alla coagulazione del sangue. Ecco perchè ho voluto saggiare l'influenza su tale fenomeno esercitata dai farmaci che agiscono elettivamente sul sistema nervoso autonomo, pensando che essi, per la loro azione più localizzata a determinate strutture dell'apparato nervoso, potessero essere più efficaci.

Come ho già detto più sopra, l'adrenalina nella dose di mg 0,02 per kg di peso del corpo, determina un notevole abbreviamento del tempo di coagulazione, un forte aumento della trombina e una leggera diminuzione dell'antitrombina. Questo comportamento della trombina

e dell'antitrombina spiega benissimo la più rapida coagulabilità; per quale meccanismo però esso si produca non è facile dire.

Vosburgh e Richards (1) avendo ottenuto effetti palesi sulla coagulabilità del sangue dalla spenuclazione di adrenalina sulla superficie ventrale del pancreas, attribuivano il fatto ad una ripercussione diretta dell'ormone sul viscere. Ma l'effetto manifesto può esser dovuto semplicemente ad un rapido assorbimento dell'adrenalina, essendo questa applicata sulla superficie peritoneale.

Van den Velden (2) pensa ad una vasodilatazione diffusa, che richiamerebbe dai tessuti in circolo sostanze a spiccato potere coagulante. Ma contro questa ipotesi basterà ricordare le non poche ricerche dimostranti che l'adrenalina ostacola in generale la fuoriuscita di liquidi dai vasi: come per es. impedisce già in dosi non attive sulle pareti vasali l'insorgenza delle papule susseguenti all'iniezione intracute di istamina e morfina e si oppone alla formazione dell'edema negli organi sopravviventi perfusi con liquido di Ringer, (Azzi [27]) e d'altra parte ostacola altresì l'assorbimento di veleni o di farmaci dai luoghi in cui sono penetrati (veleni di serpenti, cocaina, ecc.).

Partos e Svec (12) sostengono che le modificazioni della coagulabilità del sangue prodotte dall'adrenalina sono dovute all'iperglicemia da questa provocata e ciò in base al fatto che quando vi è ipoglicemia (come nell'avvelenamento da fosforo, dopo iniezione di novirudina, ecc.) il tempo di coagulazione aumenta, mentre si abbrevia quando vi è iperglicemia (come in seguito al salasso o alla somministrazione di teobromina, morfina). Poichè l'adrenalina non modifica la coagulabilità del sangue in vitro, Partos e Svec spiegano il suo effetto in vivo, ammettendo che il fegato, impoverendosi di glicogeno per azione dell'adrenalina, sia stimolato ad allontanare pure il fibrinogeno in esso esistente. Ma se il fibrinogeno aumenta nel sangue, si dovrebbe avere un allungamento del tempo di coagulazione e non un abbreviamento, come dirò in seguito. I rapporti fra glicemia e il tempo di coagulazione possono essere pertanto semplicemente casuali. Così per es. la novirudina in dosi convenienti determina ipocoagulabilità mentre non modifica la glicemia (Partos e Svec). D'altra parte nel diabete insieme con l'eperglicemia si può avere ipocoagulabilità (Boldyreff [28], Turcatti [11]. La pilocarpina, che allunga il tempo di coaguzione, determina una netta iperglicemia (La Barre, Velluda e Bapillian, Bornstein e Vogel, Izar e Cannavò (29). Infine nei miei esperimenti la stimolazione degli splancnici che produce iperglicemia,

non modifica il tempo di coagulazione, mentre questo si allunga per azione dell'ergotamina, che non fa variare per altro la glicemia.

Turcatti (11), tenendo conto della importanza che Viale (25 e 30) dà alla milza nella coagulazione del sangue, attribuisce la ipercoagulabilità da adrenalina alla immissione in circolo di sostanze che favoriscono la coagulazione del sangue da parte della milza, spinta a contrarsi sotto l'azione dell'adrenalina. L'importanza della milza quale fattore capace di influenzare la coagulabilità del sangue era già stata rilevata prima da Spadolini (31 e 32), il quale aveva dimostrato che durante la contrazione della milza provocata dalla stimolazione del plesso lienale, il sangue che defluisce dalla milza coagula molto più rapidamente e contiene una quantità enorme di piastrine, il che può, almeno in parte spiegare un aumento della coagulabilità del sangue. Anche lo Stephan (33) mette la coagulazione del sangue in stretto rapporto con la milza, che ne considera addirittura l'organo centrale regolatore. Egli trovò infatti che irradiando la milza si ottiene nel giro di 2-4 ore un abbreviamento del tempo di coagulazione che può ridursi a 1/4 del normale. Il fenomeno dipenderebbe da un aumento considerevole della trombina per stimolazioni del sistema reticolo-endoteliale splenico; poichè l'irradiazione di altri organi non darebbe lo stesso risultato. D'altra parte Nonnenbruch e Szyska (34) osservarono ipercoagulabilità sottoponendo la milza alla diatermia, la quale anzi produce effetti più immediati e duraturi; sempre per un aumento della trombina. I risultati ottenuti da Stephan furono confermati da molti Autori. Ma Szenes e v. d. Hütten (35), Lotsch, Levis Dorn e Schulhof, Partscher, Feissly (36) dimostrarono che anche l'irradiazione di altri organi produce gli stessi effetti benchè meno evidenti. Perciò Szenes, pensa che l'irradiazione agisca sulla milza, non altrimenti che su altri organi, determinando una citolisi con produzione di sostanze che favoriscono la coagulazione. Feissly (36) poi dimostrò che il sangue coagula più rapidamente anche quando venga irradiato in vitro. D'altra parte Levis Dorn e Schulhof non riuscirono a trovare l'aumento di trombina constatato da Stephan e Nonnenbruch e Szyska. Pertanto si deve ritenere che le sostanze favorenti la coagulazione dopo l'irradiazione sono d'altra natura e non costituiscono un prodotto lienale specifico. Se a questi fatti si aggiunge che nei miei esperimenti la stimolazione dello splancnico determinava sempre contrazione della milza e ciò non ostante non variava il tempo di coagulazione e che ricerche eseguite in questo Istituto da Cortese (26) e ancora inedite dimostrarono che

l'adrenalina produce lo stesso effetto sia negli animali normali, sia in quelli smilzati si deve concludere che nella ipercoagulabilità da adrenalina non entra in giuoco la milza.

Non rimane che pensare che l'aumento della trombina e la diminuzione dell'antitrombina riscontrato nel sangue dopo iniezioni di adrenalina sia dovuto ad un eccitamento da essa esercitato sulle terminazioni nervose simpatiche del fegato per cui questo organo sia stimolato a formare e a versare in circolo più protrombina e meno antitrombina. Una maggiore formazione di trombocinasi da parte dei tessuti per azione dell'adrenalina appare meno probabile.

Passiamo ora a considerare gli effetti prodotti dalla pilocarpina, che consistono in un aumento del tempo di coagulazione e del fibrinogeno, mentre la trombina non varia e l'antitrombina di solito aumenta.

Agli stessi risultati è giunto Tanaka (14); benchè questo Autore abbia constatato anche una diminuzione della trombina, che io non ho osservato.

L'allungamento del tempo di coagulazione trova la sua spiegazione nel contemporaneo aumento del fibrinogeno, dopo che Wohlgemuth (37) e Hiruma (38) e Mellanby (40) dimostrarono che tempo di coagulazione e fibrinogeno variano di pari passo. Infatti Wohlgemuth e Hiruma osservavano che nel cane dopo la legatura dei dotti escretori del pancreas, il fibrinogeno aumenta di molto, fino ad otto volte, e lo stesso succede per il tempo di coagulazione, così che le curve relative possono sovrapporsi quasi esattamente. Gli Autori pensano che gli enzimi pancreatici, passati in circolo in seguito alla legatura dei dotti escretori del pancreas vadano ad agire sulle cellule epatiche inducendole ad una scarica di fibrinogeno nel sangue. Mellanby occupandosi della velocità della coagulazione del sangue in rapporto alle concentrazioni rispettive del fibrinogeno e della trombina trovò, in disaccordo con Foà (39) che, rimanendo costante la quantità di trombina, il tempo di coagulazione varia proporzionalmente alla quantità di fibrinogeno. Ed io stesso ho potuto confermare questo fatto: se dosando la trombina col metodo di Wolgemuth, adoperavo soluzioni di fibrinogeno 10 volte più concentrate di quella usata di solito, la coagulazione invece che dopo 24 ore non era manifesta che tre o quattro giorni dopo.

L'aumentare del tempo di coagulazione col crescere della quantità di fibrinogeno si può forse spiegare, ammettendo che, per azio-

ne della trombina, dal fibrinogeno si formi anzitutto un composto intermedio e, solo quando tutto il fibrinogeno si è trasformato in tale composto, questo cominci a dar luogo alla fibrina. Si comprende perciò che quanto è maggiore la quantità di fibrinogeno, tanto maggiore sarà il tempo richiesto dalla trasformazione di esso nel composto intermedio.

L'aumento della quantità di fibrinogeno e di antitrombina da me riscontrato dopo l'iniezione di pilocarpina si può attribuire a che questo alcaloide eccita i rami epatici del vago e in conseguenza può determinare una scarica di fibrinogeno e di antitrombina nel sangue da parte del fegato.

Gli effetti da me osservati in seguito alla iniezione di atropina collimano con quelli prodotti dall'adrenalina, benchè siano un po' meno pronunziati. Infatti in entrambi i casi il tempo di coagulazione si abbrevia, la trombina aumenta, l'antitrombina diminuisce, mentre il fibrinogeno non varia.

Volendo dare una spiegazione di questi fatti si è indotti a pensare che, venendo paralizzata dall'atropina l'innervazione vagale del fegato, opposta, se non proprio antagonista a quella simpatica, questa ultima acquisti il predominio ed ecciti il fegato a formare e a versare in circolo una maggiore quantità di protrombina ed una minore di antitrombina.

I risultati da me ottenuti colla atropina non concordano con quelli di Doyon e dei suoi collaboratori (15). Ma è da notare che questi Autori somministrarono l'atropina in quantità tripla di quella da me sperimentata e la iniettarono in una vena meseraica, ottenendo un ritardo nella coagulazione del sangue delle vene sovraepatiche, che poteva giungere a più di un giorno, ritardo che non si verificava iniettando l'atropina nella giugulare o nella safena.

Se infine si esaminano gli effetti prodotti dall'ergotamina si rileva che essi sono uguali a quelli osservati colla pilocarpina. Infatti essi consistono in un allungamento del tempo di coagulazione, dovuto ad un aumento del fibrinogeno e della antitrombina, mentre la trombina non varia. La paralisi dei rami simpatici che si distribuiscono al fegato, determinata dall'ergotamina, averebbe dunque come conseguenza il prevalere dell'innervazione vagale, opposta a quella simpatica, e il ripercuotersi del tono vagale aumentato sulla coagulabilità del sangue.

Prima di giungere ad una conclusione è utile confrontare fra di loro gli effetti prodotti dai singoli farmaci, schematizzandoli nella

seguente tabella, in cui + indica aumento, — diminuzione e 0 nessuna variazione:

	Tempo di coagulazione	Trombina	Fibrinogeno	Antitrombina
Adrenalina (eccitante del simpatico)	—	+	0	—
Pilocarpina (eccitante del parasimpatico)	+	0	+	+
Atropina (paralizzante del parasimpatico)	—	+	0	—
Ergotamina (paralizzante del simpatico)	+	0	+	+

Da questa tabella risulta anzitutto che, come l'adrenalina, eccitante del simpatico, ha sul tempo di coagulazione lo stesso effetto dell'atropina, paralizzante del parasimpatico, così l'ergotamina, paralizzante del simpatico, agisce come la pilocarpina, eccitante del parasimpatico.

Se però si analizza per quale meccanismo si producono le opposte variazioni della coagulabilità del sangue per opera dei suddetti farmaci, si constata che i fattori che le determinano non sono gli stessi. Solo l'antitrombina si vede variare parallelamente al tempo di coagulazione; infatti essa si trova sempre aumentata quando anche il tempo di coagulazione è allungato, come succede per azione della pilocarpina o dell'ergotamina; mentre è diminuita quando il tempo di coagulazione è abbreviato, come si verifica per l'adrenalina e per l'atropina. Invece per quanto riguarda la trombina e il fibrinogeno, quando il tempo di coagulazione è abbreviato, si trova aumentata la trombina e invariato il fibrinogeno, mentre quando il tempo di coagulazione è allungato, si trova aumentato il fibrinogeno e invariata la trombina.

Perciò solo sulla formazione dell'antitrombina e sulla sua penetrazione in circolo si può dire che simpatico e parasimpatico hanno veramente un'azione antagonista: infatti mentre l'eccitamento del simpatico e la paralisi del parasimpatico hanno un'azione inibitrice, l'eccitamento del simpatico o la paralisi del parasimpatico ne hanno una favorevole. Per la trombina invece si può dire che solo l'eccitamento del simpatico o la paralisi del parasimpatico ne favoriscono la formazione, mentre tanto l'eccitamento del parasimpatico, quanto la

paralisi del simpatico rimangono senza effetti. Per il fibrinogeno infine solo l'eccitamento del parasimpatico o la paralisi del simpatico ne producono l'aumento, mentre sia l'eccitamento del simpatico, sia la paralisi dal parasimpatico non determina variazioni.

Nè coll'eccitamento, nè colla paralisi del simpatico o del parasimpatico è dunque possibile ottenere una diminuzione della trombina o del fibrinogeno; ciò forse è dovuto al fatto che nel sangue è già contenuta una certa quantità di protrombina e di fibrinogeno che non può essere allontanata in breve tempo per l'intervento o l'esclusione del sistema nervoso autonomo. Al contrario l'aumento della trombina o del fibrinogeno può verificarsi per una scarica di protrombina e di fibrinogeno dal fegato provocata dall'eccitamento di una delle due sezioni del sistema autonomo o dalla paralisi dell'altra, antagonista alla prima.

V. — Conclusioni.

1) La stimolazione con corrente faradica dei monconi periferici dei due vaghi, praticata al collo, come pure quella dei monconi periferici degli splancnici, praticata subito al disotto del diaframma, non determinano variazioni apprezzabili del tempo di coagulazione.

2) L'adrenalina o l'atropina, iniettate nella safena, la prima nella dose di mg 0,02 per kg del peso del corpo, la seconda in quella di 1 mg, determinano abbreviamento del tempo di coagulazione, aumento della trombina e diminuizione dell'antitrombina, mentre il fibrinogeno non varia.

3) La pilocarpina o l'ergotamina, iniettate pure nella safena, la prima nella dose di 1 mg per kg del peso del corpo, la seconda in quella di mg 1-0,5, producono aumento del tempo di coagulazione, del fibrinogeno e dell'antitrombina, mentre la trombina non varia.

4) Solo sulla formazione dell'antitrombina e sulla sua penetrazione in circolo il simpatico e il parasimpatico hanno un'azione antagonista, poichè, mentre l'eccitamento del simpatico o la paralisi del parasimpatico hanno un'azione inibitrice, l'eccitamento del parasimpatico o la paralisi del simpatico ne hanno una favorevole. Della trombina invece si può ottenere solo un aumento, mediante l'eccitamento del simpatico o la paralisi del parasimpatico, come si può ottenere solo un aumento del fibrinogeno coll'eccitamento del parasimpatico o colla paralisi del simpatico; e tanto in un caso,

quanto nell'altro l'aumento può essere dovuto ad una scarica di protrombina o di fibrinogeno del fegato. Ma nè della trombina, nè del fibrinogeno è possibile ottenere una diminuzione, intervenendo con farmaci del sistema nervoso autonomo, e ciò può forse attribuirsi al fatto che la protrombina e il fibrinogeno, già esistenti nel sangue, non ne possono essere allontanati in breve tempo.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Vosburgh C. H. a. Richards A. N. An experimental study of the sugar content and extravascular coagulation of the blood after administration of adrenalin. « Amer. Journ. of Phys. » IX, p. 39, 1903.

(2) Velden v. d. R. Zur Kreislauf analeptischen und telehämostyptischen Wirkung des Nebennierenextractes. « Münch. med. Wochsch. » LVIII, p. 184, 1911.

(3) Cannon W. B. a. Gray H. Factors affecting the coagulation time of blood. II. The astening or retarding of coagulation by adrenalin injection. « Amer. Journ. of Phys. » XXXIV, p. 232, 1914.

(4) Grabfield G. P. Factors affecting the coagulation of blood. IX°. The effect of adrenalin of the factors coagulation. « Amer. Journ. of Phys. » XLII, p. 16, 1917.

(5) Takasaki Y. Ueber Blutgerinnung nebst Angabe einer neuen Method zur Bestimmung der Gerinnungszeit des Blutes. « Mitt. aus der Mediz. Fak. Kaiserl. Univ. zu Tokio » XXX, p. 315, 1923.

(6) Hirayama S. On tre influence of the intravenous injection of adrenalin on the coagulation time of blood in the rabbit. « Tohoku Journ. of exper. medic. » VI, p. 160. 1925.

(7) Wiggers C. I. The influence of adrenalin over internal hemorrages. « Proc. Amer. Phys. Soc. in Amer. Journ. of Phys. » XXIII, p. 152, 1909.

(8) Dale H. a Laidlaw P. P. A simple coagulometer. « Journ. of Pathol. a. Bacteriol. » XVI, p. 351, 1912.

(9) Howell W. H. The conditions of the blood in hemophilia. « Proc. Amer. Phys. Soc. in Amer. Journ. of Phys. » XXXIII, p. 13, 1914.

(10) La Barre J. A propos de l'action du clorhydrate d'adrénaline sur la coagulation du sang. « Arch. intern. de Phys. » XXV, p. 265, 1925.

(11) Turcatti E. S. Rôle du pancreas, de la glycémie et de l'adrénaline sur la coagulation du sang. « Comp. Rend. Soc. Biol. » C, p. 116, 1929.

(12) Partos A. u. Svec F. Gesetzmässiger Zusammenhang zwischen Blutzuckergehalt und Blutgerinnungszeit. « Pflüger's Arch. » CCXVIII, p. 209, 1927.

(13) Tanaka H. Studies on the regulation of blood coagulation from the pharmacological point of view. II. On the influence of some sympathetic poisons on the blood coagulation. « Oka. Igakk. » LX, p. 886, 1928. Ref. in « Berich. ges Phys. » XLVII, p. 272. 1929.

(14) Tanaka H. Studies on the regulation, etc. III. On the influence of some parasympathetic poisons on the blood coagulation. « Oka. Igakk. » XL. p. 1103, 1928. Ref. in « Ber. ges. Phys. » XLVIII, 136, 1929.

(15) Doyon M. et Kareff N. Action de l'atropine sur la coagulation du sang.. « Jonrn. de Phys. et Path. gén. » VIII, 227, 1906.

(16) Cannon W. B. a. Mendenhall W. L. Factors affecting the coagulation time of blood. III. The astening of coagulation by stimulating the splancnic nerves. « Amer. Journ. of Phys. » XXXIV, p. 243, 1914.

(17) Popielski L. Blutdruck und Ungerinnbarkeit des Blutes bei der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen. « Pflüger's Arch. » CXLIV, p. 135, 1912.

(18) Plattner F. u. Kodera J. Der Einfluss der Vagusreizung auf die Gerinnunszeit des Blutes. « Pflüger's Arch. » CCXIX, p. 564, 1928.

(19) Czubalski F. Changements de la concéntration en ions d'hydrogène, de la coagulabilité et de l'indice réfractométrique du sang sous l'influence de l'excitation des nerves pneumogastrique et sympatique. « Comt. Rend. de la Soc. de Biol. » CIV, p. 902, 1930.

(20) Feissly R. Dispositif pour la mesure de la vitesse et de la marche de la coagulation du sang. « Comt. Rend. Soc. Biol. » XCVII, p. 467, 1927.

(21) Wolgemuth J. Methode zur quantitative Bestimmung des Fibrinfermentes. « Grundlage der Fermentemethoden » Berlin. 1913.

(22) Foster D. P. a. Wipple G. H. Blood fibrin studiens. I. An accurate methode for the quantitative analysis of blood fibrin in small amounts of blood. « Amer. Journ. of Phys. » LVIII, p. 365, 1922.

(23) Hess A. F. A test for antithrombin in the blood. « Journ. of exper. med. » XXI, p. 338, 1915.

(24) Tournade A. et Chabrol M. Détermination de la quantité d'adrénaline sécrétée par la capsule surrénale pendent l'excitation du splanchnique. Calcul du taux dell'hyperadrénalinémie ainsi crée. « Comt. Rend. de la Soc. de Biol. » LXXXVIII, p. , 1923.

(25) Viale G. L'intervento della milza nella coagulabilità del sangue e nella regolazione della pressione sanguigna. I. Influenza della milza sulla coagulabilità del sangue. « Arch. di Scienze Biol. » XII, p. 277, 1928.

(26) Cortese F. Influenza dei salassi e dell'adrenalina sulla coagulabilità del sangue. « Arch. ital. di Fisiol. » 1931.

(27) Azzi A. Ricerche sull'edema da perfusione. III. Azione delle sostanze vasomotorie e conclusioni. « Lo sperimentale ». LXXIII, p. 233, 1920.

(28) Boldyreff W. N. Die periodische Tätigkeit des Organismus und ihre physiologischen Bedeutung. « Ergeb. d. Phys. » XXIX, p. 485, 1929.

(29) Izar G. e Cannavò L. La iperglicemia da pilocarpina ed i suoi rapporti con la nota prova farmacodinamica. « Boll. Soc. ital. Biol. Sperim. » II. p. 771, 1927 e « Riforma med. » p. 752, 1927.

(30) Viale G. Irradiazione e coagulazione del sangue. Ufficio della milza e dei surreni. « Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim. » VI, p. 185, 1931.

(31) Spadolini I. Il sangue della vena lienale durante la contrazione della milza. « Monit. Zoolog. Ital. » XXXV, p. 70, 1924.

(32) Spadolini I. Contributo allo studio della fisiologia della milza. « Arch. di Fisiol. » XXVI, p. 651, 1928.

(33) Stephan R. Retikuloendotheliale Zellapparat und Blutgerinnung. « Münch. med. Wochschr. » Nr. 11, 1920.

(34) Nonnenbruch u. Szyszka. Beschleunigung der Blutgerinnung durh Milzdiothermie. « Münch. med. Wochsch. » Nr. 37, 1920.

(35) Hutten v. d. Zur Blutgerinnung nach Milz und Leberbestrahlung. « Münch. med. Wochsch. » p. 846, 1921.

36) Feissly R. Beitrag zur Blutgerinnungsbeschleunigung mittels Röntgenstrahlen. « Münch. med. Wochsch. » p. 1418, 1921.

(37) Wolgemuth J. Ueber die Bildungstätte des Fibrinogens. (Ein Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen Pankreas und Leber). « Berl. klin. Wochsch. » p. 87, 1917.

(38) Hiruma K. Studien über die Beziehung einzelner Organe zur Blutgerinnung und über die Beeinflussung der Thrombinwirkung durch Sekrete und Exkrete, nebst Untersuchungen über Antithrombin und über Fibrinolyse. « Biochem. Zeitsch. » CXXXIX, p. 152, 1923.

(39) Foá C. Sulle leggi d'azione della trombina. « Arch. Ital. Fisiol. » X, p. 479, 1912.

(40) Mellanby J. The coagulation of blood. II. The action of Snake venoms, peptone and Leech extrat.. « Journ. of Phys. » XXXVIII, p. 6, 1909.

(41) Feissly R. Dispositif pour la mésure de la vitesse et de la marche de la coagulation sanguine. « C. R. Soc. Biol. » LXXXVII, p. 467, 1927.

(42) Hess A. F. A test for antithrombin in the blood. « Journ. of exper. med. » XXI. p. 338, 1915.

(44) Foster D. P. a. Wipple G. H. Bloodfibrin studies. I. An accurate method for the quantitativen analysis of blood fibrin in small amounts of blood. « Amer. Journ. of Phys. » LVIII, p. 365, 1922.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXX° — Fasc. 2°

INFLUENZA DEI SALASSI E DELL'ADRENALINA SULLA COAGULABILITÀ DEL SANGUE.

Dott. Franz Cortese.
Assistente.

(Istituto di Fisiologia della Regia Università di Pavia diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

Le cause che determinano le variazioni della coagulabilità del sangue, osservate in alcune condizioni sperimentali, non sono finora completamente note.

Così risulta dalle ricerche di numerosi autori che il salasso provoca un abbreviamento del tempo di coagulazione; ma non si conosce con precisione per quale meccanismo si produca questo fenomeno. In verità, neppure sui limiti e sulle modalità del fenomeno considerato esiste accordo, e ciò dipende dalle condizioni sperimentali diverse in cui si trovarono i ricercatori. Ha certamente influenza sui risultati l'aver praticato salassi più o meno abbondanti e più o meno ravvicinati nel tempo; l'aver eseguito le determinazioni su animali in narcosi o no ed a maggiore o minore distanza di tempo dal momento della emorragia; l'aver scelto per gli esperimenti animali diversi nei singoli casi; infine l'avere o no seguito una tecnica di prelievo del sangue ed una tecnica di determinazione del tempo di coagulazione, esenti da cause di errori.

Dall'insieme dei risultati riferiti da vari autori pare però accertato che la coagulabilità del sangue aumenta già pochi minuti dopo il salasso. Secondo Stromberg (1), l'entità di tale aumento non è in diretta proporzione con la quantità di sangue sottratta, nè viene notevolmente modificata da salassi successivi; anzi, a questo proposito, risulta da alcuni dati di Viale (2) che, provocando emorragie lievi e determinando successivamente i tempi di coagulazione, questi tendono ad aumentare fino a raggiungere il valore osservato all'inizio dell'esperimento.

Secondo v. d. Velden (3), l'ipercoagulabilità da salasso si può spiegare con un aumento di trombocinasi nel sangue, aumento causato dall'entrata in circolo, dopo la emorragia, di liquido interstiziale dei tessuti. K. R. Drinker e C. K. Drinker (4), in seguito a salassi successivi e cospicui, trovarono una diminuzione di antitrombina nel sangue, mentre la quantità di protrombina e di fibrinogeno ed il numero delle piastrine non subivano forti variazioni. Stephan (5) osservò dopo emorragie un aumento di trombina nel siero di sangue, e Fonio (6) trovò aumentate le valenze di coagulazione (misura della proprietà di un sangue di neutralizzare il potere anticoagulante di una data sostanza).

Una spiegazione dell'ipercoagulabilità da salasso è stata recentemente avanzata da Clintock, John e Magers (7); questi autori, in base ad esperimenti dai quali era risultato che la diminuzione del tempo di coagulazione dopo il salasso non si ha più negli animali cui la milza fu asportata alcune settimane prima, concludono che dopo la emorragia il sangue si arricchisce di sostanze acceleratrici del processo di coagulazione versate in circolo per splenocontrazione. Viale (2) giunge a conclusioni simili; secondo l'autore mentre nei cani normali emorragie anche piccole determinano un aumento della coagulabilità del sangue, questo processo di difesa manca negli animali senza milza. Pensa l'autore che la splenocontrazione si compia più per via nervosa che per stimolo idrodinamico, ed avanza l'ipotesi che dalla milza siano immesse in circolo sostanze od elementi (piastrine?) che aumentano la coagulabilità del sangue. Già prima Spadolini (8) aveva dimostrato che, durante la contrazione provocata dalla stimolazione del plesso lienale, il sangue che defluisce dalla milza coagula molto più rapidamente e contiene una quantità notevole di piastrine, che può, almeno in parte, spiegare l'aumento della coagulabilità del sangue; sulla piastrinosi nel sangue della vena lienale durante la contrazione della milza, l'autore è tornato in un recente lavoro (9).

Molti lavori recenti trattano della milza come organo di riserva. È certo che per splenocontrazione si scaricano in circolo eritrociti, leucociti e piastrine; ed è noto che le piastrine hanno un compito importante nel processo di coagulazione del sangue. Perciò l'ipotesi che la milza abbia un potere di regolazione della coagulabilità del sangue merita di essere attentamente considerata, tanto più che recentemente Turcatti (10), iniettando 1 mg di adrenalina per via endovenosa a due cani splenectomizzati, avrebbe visto che, in queste

condizioni sperimentali, l'adrenalina non esercita alcuna influenza sul tempo di coagulazione. Allo stesso risultato è giunto recentemente Viale (11).

Per consiglio del Prof. Gayda, ho ripreso lo studio dell'argomento, allo scopo di indagare le variazioni della coagulabilità del sangue per effetto di salassi lievi e successivi, nel cane normale, e in alcune condizioni sperimentali quali la narcosi, la splenectomia e la surrenalectomia bilaterale. In un'altra serie di esperimenti ho considerato l'influenza dell'adrenalina sulla coagulazione del sangue, nel cane normale e nel cane senza milza.

II. — Influenza dei salassi sulla coagulabilità del sangue.

1. — *Tecnica.*

Per il prelievo del sangue fissavo il cane, digiuno da 18 ore, in posizione supina sull'apparecchio di contenzione, procedevo rapidamente alla preparazione di una delle carotidi procurando di non determinare alcuna emorragia, vi innestavo una cannula paraffinata e, dopo aver lasciato defluire circa 1 cm^3 di sangue, raccoglievo il campione che doveva servire per la determinazione del tempo di coagulazione e il cui volume era sempre di 5 cm^3.

Nei salassi successivi procedevo nello stesso modo, avendo cura di cambiare ogni volta la cannula paraffinata e di non lasciarla *in situ* più del tempo necessario. Dato il numero dei salassi eseguiti non mi era possibile praticare ogni volta una nuova breccia nella parete dell'arteria. Con le cautele descritte però credo di avere evitato di mescolare ai campioni di sangue quantità anche minime di sostanze estranee.

Per la determinazione del tempo di coagulazione usai il metodo di Feissly (12) lievemente modificato da Livraga (13); questo metodo se correttamente eseguito, dà risultati ottimi. Ho curato in particolar modo di raccogliere il sangue sempre nella stessa quantità (5 cm^3) e di mantenere l'acqua, in cui pescava il vasetto contenente il campione di sangue ad una temperatura costante di 30° C.

Per conoscere le variazioni del tempo di coagulazione già pochi minuti dopo il salasso, montai e usai due apparecchi perfettamente uguali in modo di poter eseguire le due prime determinazioni contemporaneamente; le manualità per il prelievo del secondo campione

di sangue erano compiute negli intervalli di tempo in cui non era necessario osservare il primo campione di sangue per la determinazione del tempo di coagulazione. Le determinazioni successive erano separate invece soltanto dal tempo necessario ogni volta per prelevare il sangue.

La quantità di sangue sottratta ogni volta era complessivamente di 7-8 cm^3; questa piccola, ripetuta emorragia si è dimostrata sufficiente a provocare variazioni del tempo di coagulazione. Nella maggior parte degli esperimenti però ho provocato un salasso più abbondante subito dopo il prelievo del primo campione di sangue, sottraendo una quantità di sangue grossolanamente proporzionale al peso del corpo del cane (da 20 a 50 cm^3).

Prima di determinare le variazioni del tempo di coagulazione in seguito a salassi nelle varie condizioni sperimentali, determinavo tali variazioni nello stesso animale in condizioni normali. Ogni esperimento era perciò diviso in due tempi ed occupava due giorni; naturalmente per le determinazioni del secondo giorno il sangue era prelevato dalla carotide dell'altro lato. La perdita complessiva di sangue subita dal cane nel primo tempo dell'esperimento si è dimostrata insufficiente a provocare una ipercoagulabilità durevole, cosicchè all'inizio del secondo tempo sperimentavo su animali che più non risentivano dei precedenti salassi.

Eseguivo l'asportazione della milza senza narcosi, subito dopo le determinazioni del primo giorno; praticavo l'asportazione bilaterale delle capsule surrenali per via addominale, senza narcosi, da tre ore fino a cinque ore e mezza prima dell'inizio delle determinazioni del secondo giorno; negli esperimenti in cui studiavo l'influenza della narcosi ottenevo questa mediante iniezioni endoperitoneali di cloralio idrato in soluzione acquosa al 25%.

2. — *Risultati sperimentali.*

Qui appresso sono riportati i risultati ottenuti dai singoli esperimenti. I tempi di coagulazione sono espressi in minuti primi.

Influenza dei salassi sul tempo di coagulazione nel cane normale.

Esperimento I. — 31 marzo 1930. — Cagna di kg 13.

Ora	Tempo di coagulazione
15,55	23′
16,3	18′
16,27	16′
16,45	20′
17,7	21′

Esperimento II. — 25 aprile 1930. — Cane di kg 30.

Ora		Tempo di coagulazione
15,22		22′
15,24	Salasso di cm^3 50	
15,30		13′
15,51		11′
16,3		10′
16,15		15′
16,32		15′
16,49		18′

Questi due esperimenti sono riportati quali esempi del comportamento della coagulabilità del sangue durante una serie di salassi: risulta da essi che il tempo di coagulazione presenta una forte diminuzione dopo i primi salassi, in seguito aumenta di nuovo, ravvicinandosi al valore normale. Questo comportamento è costante in tutti gli esperimenti, ma l'entità e la durata della diminuzione del tempo di coagulazione varia un poco da un animale all'altro.

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOLS OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

Influenza dei salassi sul tempo di coagulazione nel cane narcotizzato.

Esperimento III. — Cane di kg 8.

10-3-1930. Animale sveglio.		11-3-1930. Animale narcotizzato.	
Ora	Tempo di coagulaz.	Ora	Tempo di coagulaz.
16	26′	15.30 Inizio della narc.	
16.30	12′	16.20 Narc. profonda	29′
16.45	18′	16.55 » »	28′
17.5	23′	17.25 » »	29′
17.30	21′	17.55 » »	26′
17.55	24′		

Esperimento IV. — Cane di kg 22.

12-3-1930. Animale sveglio.		13-3-1930. Animale narcotizzato	
Ora	Tempo di coagulaz.	Ora	Tempo di coagulaz.
15	20′	9.15 Inizio della narc.	
15.22	15′	10.30 Narc. incompleta	26′
15.40	13′	10.58 » »	11′
15.55	17′	11.10 » »	12′
16.15	16′	11.25 » »	16′
16.33	20′	11.43 » »	23′
16.55	18′	12.8 » »	21′

Esperimento V. — Cane di kg 14.

28-3-1930. Animale sveglio.		29-3-1930 Animale narcotizzato.	
Ora	Tempo di coagulaz.	Ora	Tempo di coagulaz.
10.30	24′	9.50 Inizio della narc.	
10.32 Salasso cm^3 30		10.25 Narc. profonda	23′
10.38	15′	10.27 Salasso cm^3 30	
11	16′	10.33 Narc. profonda	22′
11.18	20′	10.57 » »	21′
11.40	22′	11.20 » »	24′

**

Esperimento VI. — Cane di kg 13.

10-4-1930. Animale sveglio.		11-4-1930. Animale narcotizzato.		
Ora	Tempo di coagulaz.	Ora		Tempo di coagulaz.
15.15	25′	14.30	Inizio della narcosi	
15.17 Salasso di cm³ 30		15	Narcosi profonda	17′
15.23	17′	15.2	Salasso di cm³ 30	
15.48	19′	15.8	Narcosi profonda	14′
16.10	19′	15.25	» »	16′
16.31	18′	15.43	» »	17′
		16.2	» »	16′

Come risulta dagli esperimenti III, V, VI la narcosi profonda dell'animale impedisce lo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso. Infatti in questi casi le differenze fra i diversi tempi di coagulazione non sorpassano i 2-3 minuti e devono considerarsi perciò prive di significato. Nello esperimento IV, malgrado sia stata somministrata una dose elevata di cloralio, non si è ottenuta narcosi completa, poichè permanevano i riflessi e la sensibilità. Orbene in questo esperimento il tempo di coagulazione segue lo stesso comportamento che si osserva nel cane normale.

Questi risultati fanno pensare che la ipercoagulabilità da salasso si produca almeno in parte per via nervosa; poichè manca nella narcosi completa.

Influenza dei salassi sul tempo di coagulazione nel cane splenectomizzato.

Esperimento VII. — Cane di kg 8.

11-4-1930. Animale normale.		12-4-1930 Anim. splenectomizzato.		
	Tempo di coagulaz.	Ora		Tempo di coagulaz.
10.8	17′	10.10		15′
10.10 Salasso di cm³ 20		10.12	Salasso di cm³ 20	
10.16	11′	10.18		10′
10.35	11′	10.35		10′
10.48	13′	10.47		14′
11.3	14′	11.3		12′
11.20	15′	11.17		16′
11.45 Splenectomia		11.35		17′

ESPERIMENTO VIII. — Cane di kg 30.

14-4-1930. Animale normale. 15-4-1930. Animale splenectomizzato.

Ora		Tempo di coagulaz.	Ora		Tempo di coagulaz.
15.25		19′	14.35		21′
15.27	Salasso di cm^3 50		14.37	Salasso di cm^3 50	
15.33		15′	14.49		12′
15.55		9′	15.5		9′
16.6		11′	15.15		15′
16.19		10′	15.32		19′
16.30		15′	15.53		14′
16.48		17′	16.9		17′
17.15	Splenectomia				

ESPERIMENTO IX. — Cane di kg 21.

24-3-1930. Animale normale. 25-3-1930. Anim. splenectomizzato.

Ora		Tempo di coagulaz.	Ora		Tempo di coagulaz.
10.55		20′	10.10		18′
10.57	Salasso di cm^3 50		10.12	Salasso di cm^3 50	
11.3		12′	10.18		11′
11.30	Splenectomia		10.40		7′
			10.49		7′
			10.58		8′
			11.8		10′
			11.20		13′

Come risulta dagli esperimenti VII, VIII, IX, l'asportazione della milza non impedisce lo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso, e neppure attenua l'entità di questa; non si può pensare perciò che la splenocontrazione provocata dalla perdita di sangue sia uno dei fattori che rendono il sangue più coagulabile.

Influenza dei salassi sul tempo di coagulazione nel cane scapsulato.

Esperimento X. — Cane di kg 7.

15-4-1930. Animale normale.		16-4-1930. Animale scapsulato.	
Ora	Tempo di coagulaz.	Ora	Tempo di coagulaz.
10.15	19′	11.15 Surrenalectomia bilaterale	
10.23	9′	14.15	25′
10.42	10′	14.23	20′
10.54	16′	14.46	16′
11.12	20′	15.4	25′
		15.30	26′
		15.58	26′

NB. — La surrenalectomia era incompleta a sinistra, dove inavvertitamente era rimasto *in situ* il polo inferiore della ghiandola.

Esperimento XI. — Cane di kg 14.

17-4-1930. Animale normale.		18-4-1930. Animale scapsulato.	
Ora	Tempo di coagulazione	Ora	Tempo di coagulazione
15.35	21′	11.30 Surrenalectomia bilaterale	
15.37 Salasso di cm^3 30		15.28	17′
15.43	17′	15.30 Salasso di cm^3 30	
16.4	14′	15.36	9′
16.20	14′	15.53	19′
16.36	18′	16.14	21′
16.56	20′	16.36	24′
		17.2	25′

Esperimento XII. — Cagna di kg 16.

23-4-1930. Animale normale.		24-4-1930. Animale scapsulato.	
Ora	Tempo di coagulazione	Ora	Tempo di coagulazione
15.30	21′	10.15 Surrenalectomia bilaterale	
15.32 Salasso di cm³ 30		15.47	19′
15.38	12′	15.49 Salasso di cm³ 30	
16	14′	15.55	18′
16.15	15′	16.18	21′
16.32	17′	16.41	20′
16.50	22′	17.2	21′
		17.25	22′

Esperimento XIII. — Cane di kg 8.

30-4-1930. Animale normale.		1-5-1930. Animale scapsulato.	
Ora	Tempo di coagulazione	Ora	Tempo di coagulazione
		11.30 Surrenalectomia bilaterale	
15.31	14′		
15.39	7′	14.33	16′
15.57	14′	14.41	15′
16.13	13′	14.58	16′
16.28	18′	15.16	18′
		15.35	17′

Esperimento XIV. — Cagna di kg 7.

12-5-1930. Animale normale.		13-5-1930. Animale scapsulato.	
Ora	Tempo di coagulazione	Ora	Tempo di coagulazione
15.40	24′	11.15 Surrenalectomia bilaterale	
15.48	18′	16.15	19′
16.11	12′	16.23	20′
16.25	19′	16.44	18′
16.45	23′	17.4	20′
		17.26	21′
		17.48	23′

Negli esperimenti XII, XIII, XIV, dopo l'asportazione completa delle surrenali, non si osserva alcuna notevole variazione del tempo di coagulazione per effetto dei salassi .Nell'esperimento X si notano variazioni paragonabili a quelle osservate in condizioni fisiologiche, in questo caso però all'autopsia dell'animale si è potuto constatare che la surrenalectomia non era stata completa. Nello esperimento XI si osserva un aumento della coagulabilità del sangue netto ma isolato ad una sola determinazione; in questo caso la surrenalectomia appariva completa.

Ad ogni modo questi risultati dimostrano che la presenza delle capsule surrenali costituisce un fattore importante per lo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso.

III. — Influenza dell'adrenalina sulla coagulabilità del sangue.

1. — *Tecnica.*

Ciascun esperimento si svolgeva in due giorni. La mattina del primo giorno determinavo il tempo di coagulazione, la trombina, l'antitrombina ed il fibrinogeno prima e dopo l'iniezione di adrenalina; la mattina del giorno successivo eseguivo le stesse determinazioni, sullo stesso animale dopo la splenectomia.

Prelevavo il sangue con la stessa tecnica seguita nelle ricerche precedenti; ma in quantità maggiore (ogni volta 40 cm^3), onde poter eseguire tutte le determinazioni. Dovendo compiere soltanto due prelievi di sangue ho usufruito della stessa carotide, praticando due breccie, la seconda più prossimalmente alla prima.

Prelevato il sangue per le determinazioni eseguivo dopo 35-40 minuti, l'iniezione nella vena femorale di cloridrato di adrenalina Parke-Davis e Co nella dose di mg 0,02 per kg di peso del corpo; e 15-20 minuti dopo l'iniezione prelevavo di nuovo il sangue per le determinazioni. L'intervallo di tempo fra i due prelievi di sangue era sufficiente per evitare errori, poichè da esperimenti di Livraga (13) e miei (esperimenti XXI, XXII), risulta che nel cane la perdita complessiva di 40 cm^3 di sangue non dà modificazioni della coagulabilità dopo 50-60 minuti.

Le stesse manipolazioni eseguivo il giorno successivo sullo stesso cane, splenectomizzato.

Praticai l'asportazione della milza senza narcosi; in tre cani subito dopo la seconda determinazione del tempo di coagulazione (primo giorno di esperimento); in altri tre, un'ora prima dell'inizio delle determinazioni nel secondo giorno di esperimento.

Seguivo per la determinazione del tempo di coagulazione, il metodo di Feissly; per la determinazione quantitativa della trombina nel siero di sangue, il metodo di Wolgemuth (14); per la determinazione dell'antitrombina nel plasma, il metodo di Howell e Hess (15); per la determinazione quantitativa del fibrinogeno nel plasma, il metodo di Foster e Whipple (16). Per i particolari di questi metodi rimando al lavoro di Livraga.

2. — *Risultati sperimentali.*

I risultati di questa serie di esperimenti sono raccolti nelle tabelle I e II. In queste il tempo di coagulazione è indicato in minuti primi; la quantità di trombina è espressa dal numero di unità di trombina contenute in 1 cm^3 di siero di sangue; il fibrinogeno è espresso dalla quantità in g contenuta in 100 cm^3 di plasma. Per l'antitrombina sono riportati i tempi di coagulazione del plasma dopo aggiunta di 3-5 goccie di soluzione di antitrombina.

Dagli esperimenti di controllo (tabella II) nei quali tutte le determinazioni furono eseguite su animali che non erano stati sottoposti nè all'asportazione della milza nè alle iniezioni di adrenalina, risulta che le emorragie lievi, ed il trauma operatorio (preparazione della carotide) non hanno di per sè una influenza apprezzabile sul tempo di coagulazione, sulla quantità di trombina e su quella dell'antitrombina. Il fibrinogeno invece si trova aumentato nelle determinazioni eseguite nel secondo giorno di esperimento e tale aumento deve essere imputato al trauma operatorio; essendo noto dalle ricerche di parecchi autori e fra gli altri di Govaerts e Harven (17), che, dopo i traumi anche asettici e gli interventi chirurgici, si ha un aumento notevole e rapido del fibrinogeno nel sangue. Tale aumento è più marcato nei cani splenectomizzati; il fenomeno è con ogni probabilità in relazione con il maggior trauma operatorio subito dall'animale. Esso ad ogni modo deve esser privo di influenza sulla coagulabilità del sangue, poichè la media dei tempi di coagulazione nelle prime determinazioni del secondo giorno di esperimento non differisce sensibilmente dalla rispettiva media del primo giorno, segnando solo una diminuzione del 9% circa.

TABELLA I. **Influenza dell'adrenalina sulla coagulabilità del sangue prima e dopo la splenectomia.**

Numero dell'esperimento	Sesso del cane / Peso del corpo in Kg.	Data dell'esperimento (anno 1930)		Prima della splenectomia (1° giorno dell'esperimento)		Dopo la splenectomia (2° giorno dell'esperimento)		Osservazioni
				Prima dell'iniez. di adrenalina	Dopo l'iniezione di adrenalina	Prima dell'iniez. di adrenalina	Dopo l'iniezione di adrenalina	
XV	♂ 18	3-4- I	Tempo di coagulazione	28′	22′	25′	15′	La splenectomia fu eseguita un'ora prima delle determinazioni del secondo giorno di esperimento.
			Trombina	512	512	256	512	
			Fibrinogeno	0.43	0.39	0.34	0.31	
			Antitrombina 0	5′	5′	4′ 30″	4.30″	
			Antitrombina 3 goccie	7′	8′	4′ 30″	5′	
			Antitrombina 5 goccie	—	—	9′ 30″	7′ 30″	
XVI	♂ 17	12-13-II	Tempo di coagulazione	30′	23′	26′	11′	idem
			Trombina	128	256	128	256	
			Fibrinogeno	0.33	0.36	0 41	0.45	
			Antitrombina 0	4′	4′	4′	4′	
			Antitrombina 3 goccie	5′ 30″	5′ 30″	5′	4′ 30″	
			Antitrombina 5 goccie	6′	6′ 30″	5′	5′	
XVII	♂ 12	25-26-II	Tempo di coagulazione	25′	17′	26′	20′	idem
			Trombina	128	256	64	128	
			Fibrinogeno	0.43	0.41	0 62	0 60	
			Antitrombina 0	4′ 30″	4′ 30″	5′ 30″	5′ 30″	
			Antitrombina 3 goccie	9′ 30″	7′ 30″	6′	6′	
			Antitrombina 5 goccie	9′ 30″	8′	11′ 30″	8′ 30′	

(*segue*: TABELLA I).

Numero dell'esperimento	Sesso del cane / Peso del corpo in Kg.	Data dell'esperimento (anno 1930)		Prima della splenectomia (1° giorno dell'esperimento)		Dopo la splenectomia (2° giorno dell'esperimento)		*Osservazioni*
				Prima dell'iniez. di adrenalina	Dopo l'iniezione di adrenalina	Prima dell'iniez. di adrenalina	Dopo l'iniezione di adrenalina	
XVIII	♂ 24	18-19-II	Tempo di coagulazione	20′	16′	11′	6′	La splenectomia fu eseguita subito dopo le determinazioni del primo giorno di esperimento.
			Trombina	256	512	512	1024	
			Fibrinogeno	0.42	0.45	0.58	0 61	
			Antitrombina 0	4′ 30″	4′ 30″	3′ 30″	3′ 30″	
			Antitrombina 3 goccie	7′	5′ 30′	5′	5′	
			Antitrombina 5 goccie	9′ 30″	8′	8′	6′ 30″	
XIX	♂ 20	4-5-III	Tempo di coagulazione	23′	18′	25′	21′	idem
			Trombina	256	256	256	512	
			Fibrinogeno	0.39	0.37	0.58	0.64	
			Antitrombina 0	2′	2′	4′ 30″	4′ 30″	
			Antitrombina 3 goccie	3 30″	4′	5′ 30″	5′ 30″	
			Antitrombina 5 goccie	6′ 30″	5′ 30″	10′	8′	
XX	♂ 20	7-8-III	Tempo di coagulazione	25′	17′	22′	17′	idem
			Trombina	256	512	512	512	
			Fibrinogeno	0.41	0.42	0.66	0 70	
			Antitrombina 0	4′	4′	5′	5′	
			Antitrombina 3 goccie	6′ 30″	6′ 30″	9′	6′ 30″	
			Antitrombina 5 goccie	8′ 30″	16′	13′	12′	

TABELLA II.

Esperimenti di controllo in cui non fu iniettata adrenalina, nè eseguita la splenectomia.

Numero dell'esperimento	Sesso dell'animale / Peso del corpo in Kg.	Data dell'esperimento (anno 1930)		1° giorno dell'esperimento		2° giorno dell'esperimento	
				1ª determinazione	2ª determinazione	1ª determinazione	2ª determinazione
XXI	♀ 22	28-2 / 1-III	Tempo di coagulazione	27′	26′	23′	25′
			Trombina	128	128	128	128
			Fibrinogeno	0.32	0.36	0.45	0.48
			Antitrombina 0	6′	6′	4′ 30″	4′ 30
			Antitrombina 3 goccie	7′	6′ 30″	5′	5
			Antitrombina 5 goccie	10′	10′	6′ 30″	7′
XXII	♂ 24	15-16-V	Tempo di coagulazione	16′	17′	18′	17′
			Trombina	256	256	256	256
			Fibrinogeno	0.61	0.63	0.70	0.74
			Antitrombina 0	4′	4′	4′	4′
			Antitrombina 3 goccie	5′	5	4′	4′
			Antitrombina 5 goccie	6′ 30″	6′ 30″	6′	6′

Dagli esperimenti risulta poi che l'adrenalina esplica la stessa azione sulla coagulabilità del sangue, sia nel cane normale, sia nel cane splenectomizzato. Tale azione consiste in una diminuzione del tempo di coagulazione, nel primo caso in media di un quarto, nel secondo di un terzo, in un aumento della trombina e in una lieve diminuzione dell'antitrombina mentre il fibrinogeno non varia in modo sensibile.

IV. — Discussione ed interpretazione dei risultati sperimentali.

Consideriamo prima quale influenza esercitino i salassi sulla coagulabilità del sangue.

Nelle condizioni sperimentali prescelte (salassi lievi e ripetuti), si nota una diminuzione del tempo di coagulazione, diminuzione che raggiunge sempre il massimo nella prima e seconda determinazione dopo il salasso iniziale, cioè a 8-30 minuti dall'inizio dell'esperimento. In seguito il tempo di coagulazione aumenta di nuovo ed in alcuni casi (esperimenti IV, XI, XIV) raggiunge, in altri (esperimenti X, XII, XIII) supera il valore normale. Sono dunque evidenti la rapidità dello stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso in accordo con i risultati di Stromberg, ed il suo carattere transitorio in accordo con i dati di Viale. Tale carattere transitorio riceve conferma dagli esperimenti XXI, XXII, nei quali i salassi non furono ripetuti, e dai quali risulta che il tempo di coagulazione determinato 50-60 minuti dopo il salasso non presenta differenze apprezzabili dalla norma.

L'aumento della coagulabilità sanguigna dopo il salasso si direbbe dunque il risultato di una subitanea reazione dell'organismo di fronte all'emorragia, reazione che si deve compiere per un meccanismo nervoso. Infatti abolito, con la narcosi completa dell'animale tale meccanismo, non si verifica più aumento della coagulabilità dopo i salassi (esperimenti III, V, VI).

Ammesso che l'ipercoagulabilità da salasso insorga per un'azione nervosa è da chiedersi su quali funzioni essa si ripercuota.

Si può pensare, in base alle osservazioni di Clintock, John e Magers, e di Viale, che in queste condizioni sia interessata la milza che contraendosi per via nervosa in seguito al salasso versi in circolo sostanze od elementi che accelerino il processo di coagulazione. È

bensì vero che Clintock, John e Magers eseguirono le loro determinazioni su cani splenectonizzati da alcune settimane; ma, poichè l'ipercoagulabilità da salasso è attribuita dagli autori alla splenocontrazione, essa deve necessariamente mancare dopo la splenectomia qualunque sia l'epoca in cui fu praticata l'operazione. Ora, in base ai miei esperimenti l'ipotesi espressa dagli autori appare priva di fondamento; infatti, negli esperimenti VII, VIII e IX, l'asportazione della milza non impedì lo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso, e neppure ne attenuò l'intensità.

La contrazione della milza non vale neppure a spiegare la ipercoagulabilità da adrenalina; risulta infatti dagli esperimenti XV-XX che l'iniezione endovenosa di una opportuna dose di adrenalina provoca diminuzione del tempo di coagulazione anche nei cani senza milza. Questi risultati sperimentali sono opposti a quelli di Turcatti e di Viale, i quali per altro hanno limitato le proprie osservazioni a due soli esperimenti.

L'ipercoagulabilità da salasso deve con ogni probabilità essere in rapporto con tutt'altra funzione che con quella della milza; infatti appare legata alla presenza delle ghiandole surrenali. Dalle ricerche eseguite su cani scapsulati risulta che, in tre esperimenti (XII, XIII, XIV) su cinque (X, XI, XII, XIII, XIV), dopo l'asportazione completa delle capsule surrenali, non si osserva alcuna notevole variazione del tempo di coagulazione durante la serie dei salassi. Non è escluso che nell'esperimento XI, in cui si osservò ancora ipercoagulabilità da salasso malgrado la surrenalectomia apparisse completa, esistesse una piccola capsula surrenale accessoria; ad ogni modo in questo caso l'aumento della coagulabilità del sangue appare isolato ad una sola delle determinazioni. Invece l'esperimento X, nel quale la surrenalectomia fu inavvertitamente incompleta, acquista il valore di esperimento di controllo, perchè in questo caso si osservarono variazioni del tempo di coagulazione paragonabili a quelle osservate in condizioni fisiologiche.

Poichè era mio intendimento studiare l'influenza delle surrenali sulla coagulazione del sangue solo in rapporto alla ipercoagulabilità da salasso, gli esperimenti furono eseguiti poche ore dopo la surrenalectomia. In questo breve periodo di tempo, non si è osservato che la mancanza delle surrenali inducesse un aumento così notevole del tempo di coagulazione, come quello osservato da Barlow e Ellis (18) nei gatti dopo un certo tempo dalla surrenalectomia.

È risultato invece evidente, già poco tempo dopo l'asportazione

delle surrenali, l'ispessimento notevole del sangue, che defluiva lentamente, alcune volte a gocce, dalla cannula paraffinata; ispessimento che senza dubbio si deve mettere in rapporto con l'aumento di viscosità del sangue già osservato dopo surrenalectomia da VIALE (19).

Stabilito che la presenza delle capsule surrenali è necessaria allo stabilirsi della ipercoagulabilità da salasso, è logico pensare che quest'ultima si produca in seguito alla scarica di adrenalina provocata per via nervosa dal salasso, fenomeno sperimentalmente accertato da SAITO e collaboratori (20). Forse tale scarica di adrenalina è dovuta più al trauma operatorio prodotto nell'eseguire il salasso che alla quantità di sangue sottratta. Ad ogni modo alcuni fatti rilevati durante gli esperimenti mi fanno ritenere che l'ipotesi da me avanzata abbia una base di realtà; e cioè i caratteri di subitaneità e di transitorietà propri delle modificazioni del tempo di coagulazione osservate (ed è noto che gli effetti della scarica di adrenalina sono pure subitanei e transitori) ed in secondo luogo il fatto che, allorchè non esiste la possibilità che tale scarica si produca (narcosi completa) i salassi restano senza effetto sul tempo di coagulazione.

V. — CONCLUSIONI.

1. — Salassi modici e successivi provocano nel cane un aumento rapido e transitorio della coagulabilità del sangue.

2. — L'aumento della coagulabilità del sangue dopo i salassi manca nella narcosi completa e dopo la surrenalectomia; si può perciò pensare che esso sia dovuto ad una scarica di adrenalina provocata per via nervosa dal salasso.

3. — Si deve escludere che l'aumento della coagulabilità del sangue dopo i salassi e quello dopo iniezioni di adrenalina siano dovuti a contrazione della milza, che versi in circolo sostanze od elementi che accelerino la coagulazione, perchè si producono anche negli animali splenectomizzati.

BIBLIOGRAFIA.

(1) STROMBERG H. Veranderungen der Blutgerinnung durch Blutverluste. « Bioch. Ztschr. », XXXVII, p. 218, 1911.

(2) VIALE G. L'intervento della milza nella coagulabilità del sangue e nella regolazione della pressione sanguigna. « Arch. Scienze Biolog. », XII, p. 277, 1928.

(3) v. d. VELDEN. Blutverlust und Blutgerinnung. « Arch. f. exper. Pathol. », LXI, p. 37, 1909.

(4) DRINKER K. R. e DRINKER C. K. Factors affecting the coagulation time of blood. VI. The effect of rapid progressive hemorrhage upon the factors of coagulation. « Amer. J. of Physiol. », XXXVI, p. 305, 1915.

(5) Stephan R. Ueber die Pathologie der Blutgerinnung. « Dtsch. Med. Woch. », XLVI, p. 684, 1920.

(6) Fonio A. Neuere Untersuchungen über Blutgerinnung. « Schweiz. Med. Woch. », LIII, p. 36, 1923.

(7) Clintocx M., John T. e Magers E. Coagulation time following hemorrhage after splenectomy. « Proc. of the Soc. exp. biol. a. med. », XXIV, p. 203, 1926.

(8) Spadolini I. Il sangue della vena lienale durante la contrazione della milza. « Mon-Zool. Ital. », XXXV, p. 70, 1924.

(9) Spadolini I. Contributo allo studio della fisiologia della milza. « Arch. di Fisiol. », XXVI, p. 651, 1928.

(10) Turcatti E. S. Rôle du pancréas, de la glycemie et de l'adrénaline sur la coagulation du sang. « C. R. la Soc. de Biol. », C, p. 116, 1929.

(11) Viale G. Irradiazione e coagulazione del sangue. Ufficio della milza e dei surreni. « Boll. Soc. Ital. di Biol. Sperim. », VI, p. 185, 1931.

(12) Feissly R. Dispositif pour la mesure de la vitesse et de la marche de la coagulation sanguine. « C. R. de la Soc. de Biol. », XCVII, p. 467, 1927.

(13) Livraga P. Influenza del sistema nervoso autonomo sulla coagulazione del sangue. « Arch. di Fisiol. », XXX, 1931.

(14) Wolgemuth J. Methode für quantitativen Bestimmung des Fibrinferments. « Grund. d. Fermentmethoden », p. 320, Berlin, 1913.

(15) Hess A. F. A est for Antithrombin in the blood. « Journ. of exper. med. », XXI, p. 338, 1915.

(16) Foster D. P. e Whipple G. H. Bloodfibrin Studies. I. An accurate method for the quantitativen Analysis of bloodfibrin in small amounts of blood. « Amer. J. of Physiol. », LVIII, p. 365, 1922.

(17) Govaertes P. e Harven J. Variations de la teneur du sang en fibronogène après les traumatismes aseptiques et les interventions chirurgicales. « C. R. de la Soc. de Biol. », XCIX, p. 1051, 1928.

(18) Barlow O. W. e Ellis M. M. Effect of double adrenalectomy on the blood coagulation time in cats. « Amer. J. of Physiol. », LXX, p. 58, 1924.

(19) Viale G. Nuove ricerche su la funzione della capsula surrenale. « Endocr. e Patol. Costituz. », II, p. 195, 1927.

(20) Saito, Shidruka, Bunkichi e Hiroshi T. Simultaneous determination of the epinephrine liberation and the sugar content and coagulation time of blood in the non-fastened, non-anaesthetized dogs after haemorrhage. « Tohoku Journ. of exper. Med. », XI, p. 295, 1928.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXX° — Fasc. 2°

INFLUENZA DELLA TIROIDE SUL PUNTO ISOELETTRICO DELLA CUTE E DEI MUSCOLI.

Dott. Rodolfo Ferrari
Aiuto.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

In alcune ricerche precedenti (1) constatai che la tiroide ha importanza nel determinare l'edema da perfusione con soluzioni saline. In tali ricerche osservai anzitutto che l'edema che si produce in un preparato d'orecchio o di zampa di coniglio, quando venga perfuso con liquido di Ringer-Locke ossigenato, ha una intensità praticamente costante. L'aumento del peso del preparato oscilla tra il 40,2 e il 52,6% per i preparativi d'orecchio e tra il 25,2 e il 39% per i preparati di zampa ed è uguale in media rispettivamente al 45,8 e al 33,4 %. Dopo la tiroidectomia, quando sono manifesti i segni della deficienza tiroidea, l'edema che si produce nelle stesse condizioni, è notevolmente maggiore. Negli animali stiroidati il peso del preparato d'orecchio, in conseguenza dell'edema, aumenta in media del 69 % e quello del preparato di zampa del 65,5 %. Nell'animale normale osservai poi che la presenza di piccole quantità di tiroxina nel liquido di perfusione è sufficiente per ridurre notevolmente la intensità dell'edema. Questi fatti dimostrano chiaramente che la tiroide esercita sui tessuti una spiccata funzione antiedematogena. Tale funzione, già nota da lungo tempo nell'organismo integro è messa in nuova luce dai risultati dei miei esperimenti. Questi infatti indicano che i tessuti, anche quando siano staccati dall'organismo e vengano irrorati con un liquido privo di ormoni tiroidei, conservano nel loro ricambio idrico, le proprietà che sono state loro impresse dalla presenza o meno della tiroide. Non è possibile tuttavia dire se tali proprietà siano dovute all'esistenza o meno degli ormoni tiroidei nei tessuti staccati o se siano da attribuire a modificazioni delle loro condizioni fisico-chimiche, determinate precedentemente dagli stessi ormoni, quando i tessuti erano ancora in sito.

Per stabilire quale possa essere il meccanismo d'azione della tiroide nella produzione dell'edema da perfusione con soluzioni saline, mi proposi di eseguire alcune ricerche sul punto isoelettrico della cute e dei muscoli in conigli normali e tiroidectomizzati. Tali ricerche mi furono suggerite dalla considerazione che, come Loeb (2) dimostrò, in corrispondenza del punto isoelettrico tutte le proprietà fisicochimiche delle proteine, e quindi anche la loro pressione osmotica e la loro imbibizione, sono ridotte al minimo, mentre aumentano procedendo sia verso la parte alcalina sia verso quella acida.

D'altra parte Gayda (3) trovò che se si pratica la perfusione di un preparato di rana, costituito dalla testa, dalle estremità anteriori e dal cuore, con liquido di Ringer-Locke ossigenato, la cui reazione venga modificata con aggiunta di HCl o di idrossido sodico, ma la cui concentrazione osmotica rimanga uguale a quella del sangue di rana, si produce un edema nel preparato, la cui intensità varia col variare del valore di pH del liquido di perfusione. E più precisamente, le variazioni della intensità dell'edema in funzione del valore di pH del liquido di perfusione sono identiche a quelle della pressione osmotica e della imbibizione delle proteine in funzione del valore di pH di queste. Di fronte a questo dato di fatto è da aspettarsi che, se per effetto della tiroidectomia, il punto isoelettrico della cute e dei muscoli viene a corrispondere a un pH diverso, la pressione osmotica e la imbibizione delle proteine di questo tessuto, rimanendo costante il pH del liquido di perfusione, saranno pure diverse e l'intensità dell'edema varierà di conseguenza.

II. — Tecnica.

Eseguii i miei esperimenti sulla cute e sui muscoli di 10 conigli, dei quali 6 erano stati stiroidati da 70-139 giorni e presentavano evidenti segni della deficenza tiroidea. Praticai la tiroidectomia, a cui si associava necessariamente l'asportazione delle due paratiroidi interne, sui conigli all'età di un mese circa, poichè solo negli animali giovani essa è seguita da effetti evidenti. Eseguii l'operazione sempre senza ricorrere a narcosi.

Per determinare il punto isoelettrico della cute e dei muscoli mi servii del metodo della imbibizione, secondo la tecnica indicata da Quagliariello (4) per il muscolo *in toto* di rana. Determinavo cioè

l'aumento in peso che subiscono pezzi di cute o di muscolo immersi in soluzioni di acido acetico e acetato sodico a diverso valore di pH e ricercavo a quale pH il tessuto subisce la minima imbibizione.

A questo scopo toglievo la cute e i muscoli della parete anteriore dell'addome dall'animale appena ucciso e ne ritagliavo, mediante un tubo d'acciaio con orlo tagliente, dischi del diametro di 14 mm. Pesavo accuratamente ciascuno di questi dischi in un pesafiltri tarato e quindi lo ponevo in una provetta del diametro di 25 mm circa contenente 15 cm^3 della soluzione di acido acetico e acetato sodico. Preparavo 12 di tali provette con soluzioni il cui pH, aumentando di 0,2 in 0,2 crescesse da 3 fino a 6, come è indicato nella tabella seguente:

| | | |

III. — Risultati sperimentali.

Per effetto della tiroidectomia, 70-139 giorni dopo l'intervento, si resero evidenti nei conigli da me operati le classiche manifestazioni della deficienza tiroidea: cioè arresto di sviluppo del corpo, disturbi trofici della pelle e del sottocutaneo e disturbi della termogenesi.

In questo periodo di tempo eseguii le determinazioni del punto isoelettrico della cute e dei muscoli tanto negli animali tiroidectomizzati quanto in quelli normali di controllo.

I risultati dei miei esperimenti sono riportati nelle tabelle I-IV.

Tabella I.

Determinazione del punto isoelettrico della cute di conigli normali.

Animale				Aumento percentuale del peso della cute nel liquido con pH:											
Numero	Sesso	Peso Kg.	Data 1930	6.0	5.8	5 6	5.4	5.2	5 0	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	3 0
I	♀	2 1	6-VI	50	46.9	34 1	31.2	24 7	20.4	**3.7**	13.8	22.9	41.1	57.2	120 9
				41.3	34.0	22 2	15.1	15.1	6 1	**0.2**	36.8	58 6	81.1	101.4	191 1
II	♂	1.8	18-VI	158 3	130 5	113 2	68.8	**41.3**	125.1	131.0	129 0	163.0	172.8	223 7	313.7
III	♂	2.8	16-X	61.2	51 9	41.6	24.0	**15.3**	25.0	51.3	55 7	68 5	91.6	127.0	281 9
IV	♀	2.5	18-X	76 2	70 5	43.2	42.1	35.1	**3.8**	26 8	36 1	41.6	67.7	96.9	280 3

Dai dati contenuti nelle tabelle I e II risulta chiaramente che se si tengono immersi in soluzioni di acido acetico e acetato sodico con diverso valore di pH pezzi di cute o di muscoli della parete anteriore dell'addome di conigli normali, la imbibizione della cute è minima

TABELLA II.

Determinazione del punto isoelettrico dei muscoli di conigli normali.

Animale				Aumento percentuale del peso dei muscoli nel liquido con pH:											
Numero	Sesso	Peso Kg.	Data 1930	6.0	5.8	5.6	5.4	5.2	5.0	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	3.0
I	♀	2.1	6-VI	88.1	87.1	85.9	82.4	75.7	73.2	54.7	**22.3**	43.0	45.3	98.4	237.9
				89.8	80.7	79.5	72.9	54.1	50.6	48.8	**32.8**	34.5	45.3	63.9	236.7
II	♂	1.8	18-VI	198.3	121.0	116.8	112.0	97.8	89.6	82.1	**74.3**	76.3	86.4	121.0	207.6
III	♂	2.8	16-X	87.7	83.2	65.5	62.4	65.4	**51.8**	52.8	57.4	58.9	69.6	76.7	243.6
IV	♀	2.5	18-X	129.4	80.1	77.8	74.5	67.5	69.8	**62.5**	65.0	69.5	64.7	93.2	220.1

quando il valore di pH del liquido è uguale a 4,8-5,2, e quella dei muscoli è minima quando il valore di pH è uguale a 4,6-4,8, mentre l'imbibizione va sempre aumentando sia col diminuire sia coll'aumentare del valore di pH del liquido.

Dai dati prospettati nelle tabelle III e IV risulta invece che, nelle stesse condizioni suddette, la imbibizione della cute di conigli stiroidati è minima quando il valore di pH del liquido è uguale a 4,4-4,6 e quella dei muscoli è minima quando il valore di pH è uguale a 4,2-4,4, mentre, anche qui, l'imbibizione va sempre aumentando sia col diminuire sia coll'aumentare del valore di pH del liquido.

Nel coniglio normale dunque il punto isoelettrico della cute della parete anteriore dell'addome corrisponde a pH = 4,8-5,2 e quello dei muscoli, pure della parete anteriore dell'addome, a pH = 4,6-4-8. Nei conigli stiroidati il punto isoelettrico della cute della stessa

TABELLA III.

Determinazione del punto isoelettrico della cute di conigli stiroidati.

Animale				Aumento percentuale del peso della cute nel liquido con pH:											
Numero	Sesso	Peso Kg.	Data 1930	6.0	5.8	5.6	5 4	5 2	5 0	4.8	4.6	4.4	4 2	4.0	3.0
I	♂	1.4	10-VI	84.9	53.4	43.6	36.3	36.7	30.2	30.7	28 1	**18.6**	74.7	121.3	245 2
II	♂	1.3	13-VI	65.0	42 3	38.5	33.3	34.1	28 2	26 3	23.2	**22.7**	102.1	103.4	275.2
III	♀	1.5	17-VI	114.3	96.9	63.1	64.0	60.7	57.4	55.8	**40.4**	77.9	78.4	206.1	276 1
IV	♂	1.6	16-X	68.8	63.6	60.3	65 1	53.1	48.5	46.0	41 5	**22.9**	73.5	80.3	257.6
V	♂	1.4	18-X	86.9	82 1	63.0	66.6	45.5	43.7	42 6	44.1	**37.5**	68 5	78 9	189.9
VI	♀	1.3	20-X	47 7	46.6	40.6	38.8	38.6	38.1	36 2	**34.3**	44.4	49.2	107 2	119.7

regione corrisponde a pH = 4,4-4,6 e quello dei muscoli a pH = 4,2-4,4.

Concludendo, negli animali stiroidati il punto isoelettrico della cute e dei muscoli corrisponde a valori di pH minori che nei normali. Perciò, secondo quanto ho supposto più sopra, la pressione osmotica e l'imbibizione delle proteine di questi tessuti, al pH del liquido di

perfusione, che rimane sempre costante (pH = 8,5 circa) devono essere necessariamente maggiori che negli animali normali e per conseguenza anche l'intensità dell'edema deve risultare maggiore.

TABELLA IV.

Determinazione del punto isoelettrico dei muscoli di conigli stiroidati.

Animale			Data	Aumento percentuale del peso dei muscoli nel liquido con pH:											
Numero	Sesso	Peso Kg.	1930	6.0	5.8	5.6	5.4	5.2	5.0	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	3.0
I	♂	1.4	10-VI	80.1	80.3	79.4	70.5	66.3	68.8	57.6	50.7	50.2	**22.5**	123.6	211.9
				78.0	70.3	70.3	52.0	49.6	49.7	61.3	37.5	28.2	**17.9**	74.5	147.7
II	♂	1.3	13-VI	173.5	139.5	94.5	95.7	90.5	82.2	39.6	39.0	39.2	**13.5**	122.9	208.9
				116.9	61.3	47.0	44.9	45.9	36.2	30.0	16.8	3.9	**1.8**	43.6	146.9
III	♀	1.5	17-VI	92.5	83.9	77.2	78.3	75.8	70.4	62.4	54.6	50.6	**48.4**	77.0	91.8
IV	♂	1.6	16-X	98.5	92.9	86.0	87.9	85.5	79.1	78.5	72.6	**5.9**	77.5	111.4	313.3
V	♂	1.4	18-X	68.1	62.2	62.1	63.9	51.7	54.3	56.5	51.1	**43.2**	49.7	83.3	123.6
VI	♀	1.3	20-X	76.3	77.1	70.5	64.7	60.6	55.4	54.2	54.8	**51.2**	72.6	82.1	190.0

Questi fatti fanno pensare che la funzione antiedematogena della tiroide si esplichi nell'indurre modificazioni di natura fisico-chimica nei tessuti dell'organismo.

IV. — Conclusioni.

1) Nel coniglio normale il punto isoelettrico della cute e della parete anteriore dell'addome corrisponde a pH = 4,8-5,2 e quello dei muscoli, pure della parete anteriore dell'addome, a pH = 4,6-4-8.

2) Dopo la tiroidectomia, quando sono manifesti i segni della deficienza tiroidea, il punto isoelettrico della cute e quello dei muscoli della stessa regione, corrispondono rispettivamente a pH = 4,4-4,6 e a pH = 4,2-4,4, cioè a valori di pH minori che in condizione normale.

3) Questi fatti possono spiegare per quale meccanismo la tiroide eserciti la sua funzione antiedematogena.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Ferrari R. Influenza della tiroide sull'edema da perfusione con soluzione saline. « Archivio di Fisiologia ». XXIX, 191, 1930.

(2) Loeb J. Ion series and the physical properties of proteins. « Journ. of gen. Physiol. ». III, 85 e 267, 1920.

(3) Gayda T. Edema da perfusione con soluzioni saline e reazione del liquido di perfusione. « Archivio di Scienze Biologiche », IX, 354, 1927

(4) Quagliariello G. Imbibizione dei muscoli e teorie della contrazione muscolare. « Archivio di Scienze Biologiche ». V, 443, 1924.

REGIA UNIVERSITÀ DI PAVIA
ISTITUTO DI FISIOLOGIA DIRETTO DAL PROF. T. GAJDA
ISTITUTO DI PATOLOGIA CHIRURGICA DIRETTO DAL PROF. G. FICHERA

EFFETTI DELLA LEGATURA MASSIVA DI UNA PARTE DEL PANCREAS

per il dott. PIETRO LJVRAGA, Assistente

Solo una diecina d'anni addietro sembrava che la questione riguardante l'isto-fisiopatologia delle isole di Langerhans non presentasse più attrattive agli studiosi. La scuola di Toronto, concretando in una forma sicura ed utile la scoperta che autori precedenti avevano abbozzata in diversi tentativi, per varie cause infruttuosi, provocava un rifiorire di ricerche.

Dimostrata, (Carlson e Drennan, Lafon, Forschbach, Aron, Pitamada, Allen, Sandmeyer), se pur non sempre ammessa, (Pende, Grevenstük e Laqueur), la importanza assoluta del pancreas nella patogenesi del diabete mellito, si riusciva in fine a scongiurarne i pericoli della conseguenza più infausta (Banting e Best, Mac Leod, Collip); il trattamento del coma diabetico è il trionfo dell' insulina ha detto M. Labbè. Alla letteratura già vasta ed in gran parte d'indole morfologica si va ora, in accordo con l'indirizzo odierno delle ricerche, aggiungendo una serie numerosissima di lavori sperimentali e clinici, intesi a sviscerare il problema.

A sua volta la chirurgia endocrina, sostitutiva, tenta con gli innesti di pancreas di sopperire alle deficienze glicoregolatrici dell'organismo; la chirurgia sperimentale aspira a correggere le condizioni nuove create dal prevalere relativo di quegli organi che l'indagine correlazionistica, ben aiutata dalla scoperta degli autori canadesi, ha indicato. A base di ricerche già note ed avvalorate da recenti conferme, s'ideano interventi diretti a perseguire una guarigione duratura. Così sul dato istologico dell'iperplasia del tessuto Langerhansiano dopo tiroidectomia (Lorand, Kanewskaja), e su quello embriogenetico, notato da Aron, di una concomitanza costante fra sviluppo di isolotti endocrini del tipo Langerhans-Laguesse e formazione di vescicole colloidee nella tiroide, inizio di sintesi glicogenetica nella cellula epatica, come su quello anatomopatologico di una cospicua iperplasia insulare nella atireosi congenita (Pennetti), nonchè sui dati sperimentali di Ducheneau, Houssay

e Busso, Burn e Marks, Bodansky e sui frequenti reperti clinici di glicosurie tireotossiche, si fonda l'intervento proposto da Friedmann e Gottesmann, consistente nella legatura delle arterie tiroidee od in accordo con Allen, nell'ectomia più o meno estesa della ghiandola a scopo antidiabetico. Io pure, — ricerche in corso di stampa —, praticando su giovani conigli l'asportazione bilaterale della tiroide, ho avuto modo di verificare l'iperplasia del tessuto insulare che a tale intervento succede.

Altri autori, appoggiandosi invece ad un secondo elemento forse più attendibile (Depisch, Hasenheerl, Schoenbauer) del triangolo delle interferenze ormoniche di Eppinger, Falta, Rüdinger, caldeggiano interventi sui surreni. Ricerche sperimentali(Frouin, Hédon e Giraud, Mayer, Houssay e Lewis, Boggild, Ciminata), e dati clinici probativi quali ad esempio l'ipoglicemia degli Addisoniani non difettano in vero a sostenere la enervazione bilaterale delle surrenali, proposta dal Ciminata e in base ai risultati incoraggianti di questi, dal Donati estesa all'uomo con esito, almeno temporaneamente, felice. Il Perrotti, per semplificare la difficile tecnica operativa, pensa di riassumere l'atto operatorio in una capsulectomia sinistra, indubbiamente più agevole. Devo però ricordare alcuni dissenzienti (Turcatti, Viale, Pende, Sussi, Racchiusa e Criserò).

Sui concetti di una relazione antagonista insulinopituitarica poi, è stata tentata l'ipofisectomia, con scarso seguito a dir il vero (Burn, Olmsted e Logan, Legiardi Laura), mentre lo studio delle curve glicemiche e le variazioni della glicemia provocate dalla ergotamina e dalla atropina (Wachsmut e Loeweneck, Cesa-Bianchi, Moretti, Bufano), hanno spinto il Depisch, l'Hasenhoerl e lo Schoenbauer a raggiungere in vivo condizioni analoghe, mediante la enervazione dell'ilo epatico. Tali esperimenti meritano conferma.

E non si lasciò intentata la epatoterapia, (Blottner e Murphy, Lombardi) a detta di alcuni autori con buoni effetti; come la loro importanza avrebbero pure le gonadi, quali agonisti del pancreas e delle paratiroidi (Adler, Franco). Rosenberg e Meyer han visto difatti recentemente il diabete complicare un'orchiectomia.

Con altre vedute Goljanitzki sostiene che la parotide possiede, almeno allo stato latente, una secrezione interna insulinosimile, elaborata da cellule speciali, rotonde, che si trovano sulla membrana basale dei dotti più piccoli e nel connettivo interlobulare. Legando allora il

dotto di Stenone, la componente esocrina s'atrofizzerebbe, mentre quelle cellule, divenute iperplastiche, verserebbero in circolo il loro ormone con utili effetti. In vero, ricordo che l'ablazione delle salivari porta secondo taluni a glicosuria e cachessia (diabete salivare); che dalle sottomascellari si è ricavata a parità di peso, una quantità di insulina maggiore che dal pancreas (Dodds e Dickens, Best, Smith e Scott), che la legatura dei dotti escretori migliora il diabete mellito (Goljanitzki e Smirnowa, Sussi), come accade per il pancreas (Alpern e Leites, Alpern e Besuglow, Herzheimer). Ma dobbiamo registrare anche qui non pochi risultati negativi (Caccuri, Seelig, Angyan, Lucherini).

Gli assalti più numerosi sono stati diretti però al pancreas, come al maggior responsabile della fenomenologia diabetica. Se ne è studiata l'irradiazione a metà dose eritema (Risse e Poos sui conigli, Stephan e Leschke, Fonseca e Trincao sull'uomo). Se ne perseguirono con diligenza, secondo concetti moderni della chirurgia endocrina sostitutiva, gli innesti etero-omoplastici o singenesioplastici, sia in uomini melliturici che in animali con diabete grave, acuto, o lieve e cronico, di tipo Allen, Sandmeyer, Alessandri, Ottolenghi, Pratt e Murphy, Ukai, Ito Todomu, Kubany e Jakob, Gayet e Guillaumie, Jorns, adoperavano per l'innesto il pancreas di animali adulti; Fichera, consideratane la spiccata tendenza evolutiva e la peculiare ricchezza in tessuto insulare, usava pezzetti di pancreas di feti umani, prelevati subito dopo morte o conservati in ghiacciaia; Thiroloix, Voronoff, Nather, Priesel e Wagner, Jorns, Testa, Brancati, facevano ricorso a pancreas così detti « modificati » « sclerotici » o « atrofici »; cioè, in cui l'iniezione di sostanze bloccanti le vie di escrezione o la legatura dei dotti o quella massiva dell'organo avesse cagionato la scleroatrofia della componente acinosa ed il perdurare o il prevalere di quella insulare.

Con tale accorgimento si voleva provvedere all'organismo un nuovo tessuto che funzionasse continuamente ed in armonia con gli organi agonistici. Sappiamo oggi difatti come l'insulina introdotta in circolo scompare assai rapidamente (Kepinow, Ledebt-Petit Dutaillis, J-F. e C. Heimans), in ispecie eliminandosi coll'orina (Fischer e Noble, Best e Scott) e conosciamo anche quanto sia delicata la normalizzazione della glicemia di un diabetico per effetto dell'introduzione di insulina esogena, tenuto conto della labilità spiccata dell'equilibrio zuccherino di tali soggetti. Va considerato pure che il pancreas è particolarmente inadatto all'attecchimento, provocando con i suoi fermenti la citostea-

tonecrosi del sottocutaneo o la morte dei tessuti viciniori nelle altre sedi. Pertanto costituirebbero un vantaggio reale gli innesti di pancreas « modificato »; se però ancor dopo 7 mesi, un anno e, pure ad organo profondamente fibroso, non fosse possibile ritrovare qualche lobulo pancreatico tuttora integro; mentre al di là di tale lasso di tempo, se la sicurezza sulla innocuità dell'innesto può esser assoluta, le isole pure hanno risentito delle condizioni create, così che i fatti in esse riscontrati, lasciano assai perplessi sulla loro funzionalità, sia pure temporanea (Pende, Caccuri, Wohlgemuth e Seo, Wohlgemuth e Mochizuki, Perrotti), resa più difficile dalla grave sclerosi, che ostacola i rapporti fra innesto e tessuti ambienti.

Mansfeld, farmacologo ungherese, che nel 1924 studiava la questione della cura del diabete, allora di piena attualità, mirò a realizzare « in situ » il fatto osservato da Banting e Best: che pancreas atrofici contengono una maggiore quantità d'insulina. Egli pensò di sostituire all'ordinario procedimento di legatura e recisione dei dotti, la legatura massiva di una porzione del pancreas, passando il laccio sotto i vasi pancreatico-duodenali, per non pregiudicare la vitalità dell'organo. Con questa tecnica, difatti, mentre nel duodeno si versa una quantità di succo pancreatico sufficiente per la digestione, la porzione legata, divenendo sede di una cospicua produzione insulare, migliorerebbe il diabete nel soggetto in esperimento. Per la verità, la tecnica del Mansfeld non è nuova, in quanto già Schultze, Hansemann, Laguesse e Gontier de la Roche, Mankowski, avevan ricorso a legature massive, di segmenti di pancreas, conservando inalterata la loro vascolarizzazione, per dimostrare la persistenza o la iperplasia delle isole, in mezzo alla scomparsa del tessuto acinoso, per sostituzione o metamorfosi (Retterer), connettivale. Ma l'idea di un'utile applicazione antidiabetica, ridonante all'organismo l'efficienza endocrina perduta, appartiene al Farmacologo ungherese.

Conosciamo oggi bene la costituzione istomorfologica del pancreas, risultante cioè di una componente zimogenica, a secrezione esterna e di una, tessuto insulare, a secrezione interna. E' pure pacifico in fisiologia che alla prima è devoluta la produzione dei fermenti digestivi, mentre la seconda funziona in modo complesso ed ancor poco chiaro nel metabolismo carboidrato. Pertanto se la tripsina riassorbita dall'intestino o il tripsinogeno passato dal pancreas in circolo vi neutralizzano l'insulina, fenomeno controllabile in vitro (Epstein e colla-

boratori, Choay, Rosenthal e Behrendt, Partos), se dai pancreas atrofici si estrae in maggior copia l'insulina (Banting e Best, Herzheimer e Carpentier), razionale si presenta la terapia antidiabetica del Mansfeld, che conserva la secrezione pancreatica esterna, fornendo nel contempo all'organismo, in un modo duraturo e con direttive fisiologiche, il deficit di insulina.

In una comunicazione preliminare al XII Congresso di Fisiologia di Stoccolma, il Mansfeld riferiva di avere, in seguito a tale intervento, ottenuto una diminuzione della glicemia, costante e più intensa dopo 2-3 giorni di digiuno, (Karenzhypoglykämie), e curve glicemiche dopo introduzione di glucosio indicanti una miglior tollerabilità verso gli idrati di carbonio. Difatti in due cani, nell'uno 61 giorni dopo la legatura massiva del pancreas, nell'altro 86 giorni dopo, osservò che la glicemia saliva solo di poco in seguito alla introduzione di quella stessa quantità di glucosio, che prima aveva prodotto una forte iperglicemia. Perciò concluse: « Die Zuckertoleranzprüfung ist einer zweckmässig Weg, um eine Mehrproduktion von Insulin nachzuweisen ». In ricerche successive, lo stesso autore insisteva sulla determinazione della ipoglicemia da carenza, come segno decisivo nel giudicare di una iperproduzione di insulina da parte del tratto di pancreas legato; nel senso che la legatura parziale, massiva del pancreas ha modificato la glicemia, abbassandola di livello (al 18% a digiuno semplice e al 36% dopo quello di due 2-3 giorni). Sui dati delle curve di iperglicemia provocata il Mansfeld non è più del primitivo parere, affermando ch'esse in questi animali, ad insulinemia normale prima dell'operazione, sono inadeguate a svelare la iperproduzione ormonica che seguirebbe all'intervento. Accanto a curve ad acme più basso (che non sono ancora che quelle dei due cani ricordati), altre figurano dove la glicemia tocca valori più alti, che se pur dopo 9 mesi scendono (Mansfeld), non è men vero che dopo 38 sono di nuovo risaliti. In altre curve ancora dove l'iperglicemia provocata è scarsa, questa però torna con notevole ritardo alla norma; insomma: « ...aus unseren Toleranzprüfungen keine Schlüsse zu ziehen ist... »; è da notare solo che là dove la iperglicemia provocata, dopo l'intervento, è minore, pure più bassi sono i valori di partenza a digiuno.

Quasi contemporaneamente al Mansfeld, nel 1924, due autori russi, Alpern e Leites, pubblicavano risultati analoghi, ottenuti legando uno o entrambi i dotti escretori principali nei cani. Essi parlano

infatti, in accordo con Mansfeld, di una caduta stabile della glicemia dal 0,9-1,3% al 0,75-0,50%, dopo oscillazioni glicemiche nei primi due mesi dall'intervento. L'adrenalina dava un fugace e debolissimo rialzo dopo mezz'ora e due ore più tardi la glicemia ridiscendeva al livello iniziale o al disotto.

Il metabolismo carboidrato in animali con pancreas sclerotico da legatura delle vie escretrici era stato già indagato dal Pende, nel 1905. Questo autore aveva concluso che, nel congilio, a tale intervento può seguire da parte dell'organismo un compenso quasi perfetto e della secrezione esterna (aumento in peso dei conigli) e dell'interna (capacità a distruggere il glucosio iniettato sottocute), per quanto gli acini fossero fortemente atrofici e le isole pure in preda a processi degenerativi.

Wohlgemuth e Mochizuki, Wohlgemuth e Seo avevano notato invece quali conseguenze della legatura dei dotti pancreatici nei conigli: iperglicemia, glicosuria e diminuzione della tolleranza per gli idrati di carbonio, parallelamente a lesioni insulari e al prevalere del K sul Ca nel sangue; per cui parlano di un aumento di tonicità del simpatico, da iperfunzione cromaffine.

Se non che Alpern e Besuglow, ripetendo tali esperimenti (1928) trovavano al contrario un'iperglicemia provocata minore, ipoglicemia postiperglicemica esagerata e valori glicemici non molto bassi a digiuno; ma più piccoli dopo 2 giorni di carenza alimentare. Da ciò e dai dosaggi dei componenti inorganici del sangue gli autori sono tratti ad affermare una ipotonia simpatica delle conclusioni di Wohlgemuth e allievi.

Dopo i primi lavori del Mansfeld, dell'Alpern e Leites, tre autori viennesi, Nather, Priesel e Wagner, legando in due cani i dotti di Wirsung e Santorini, notarono in uno, 95 giorni dopo l'operazione, una iperglicemia provocata appena accennata, con fortissima ipoglicemia postiperglicemica. In una laparatomia successiva trovarono il pancreas macroscopicamente normale; l'altro cane presentava invece ben manifesta la ipoglicemia da digiuno. In una seconda nota, gli stessi autori asserirono di non aver mai riscontrato diminuzione della glicemia iniziale, dopo introduzione di glucosio, in cani operati tutti secondo le prescrizioni del Mansfeld.

Risultati negativi ottennero pure Gahler, Ladurner, Unterrichter. Demel e Krammer, dopo la legatura accurata del dotto principale e di quelli accessorî; videro solo una caduta transitoria della glicemia a di-

giuno e una maggior tollerabilità verso i carboidrati pure passeggera. Fra i consenzienti ricorderò invece Jorns, che in cani e conigli, nei quali aveva legato i dotti escretori od il pancreas in massa, ha riscontrato dopo 2 mesi in alcune curve una lieve iperglicemia iniziale seguita da fortissima ipoglicemia; in altri animali solo un aumento della glicemia dopo introduzione di glucosio (2 gr. per kg. del peso del corpo) meno intenso che non prima dell'operazione. Tali fenomeni tendevano a scomparire dopo il decimo mese. Nei protocolli si notano inoltre spiccate ipoglicemie da carenza (da 1,2 a 0,25%): all'esame istologico si riscontrano isole iperplastiche ed accumuli cellulari insulosimili di dimensioni ancor maggiori. In accordo con Nather, Presel e Wagner, Jorns conferma invece nello stesso lavoro l'inefficacia della legatura massiva della porzione di pancreas residua alla ablazione subtotale di questo (diabete di Sandmeyer) come la nessuna rispondenza della chiusura del dotto lasciato.

È mio convincimento che se alcune obiezioni del Mansfeld ai discordi risultati di altri sperimentatori sono giustificate, non lo sia del tutto ad es. quella sulla tecnica adottata; in quanto se il Mansfeld stesso accetta le conclusioni di Alpern e Leites, che pure hanno legato solo i dotti escretori, potrebbe ammettere quelli negativi degli autori viennesi, forse più chiari in base alla sicura nozione di dotti accessori (Hess, Sinn) e di rigenerazione o ricanalizzazione di quelli legati (Visentini, Mansfeld, Brancati, Maugeri). In proposito accennerò fin d'ora come nelle mie ricerche non abbia avuto a lamentare analogo inconveniente con la tecnica originale del Mansfeld, anche se la legatura praticata nel pancreas ceda presto, perchè il processo di reazione neoformativa che ha luogo nelle zone adiacenti alla legatura, costituisce una barriera sufficiente contro all'efflusso del secreto. Ho pertanto creduto inutile continuare nella tecnica che avevo adottata in esperimenti preliminari eseguiti in alcuni gatti, di sezionare cioè completamente la parte legata, rispettando l'arcata vasale e tenendo i due monconi allontanati con due punti di sostegno nella sierosa del duodeno, interponendo inoltre fra i due capi recisi un lembo di epiploon.

Piuttosto se si considera che le indagini espletate sono due: l'ipoglicemia da carenza e lo studio delle curve glicemiche dopo introduzione di glucosio: l'una costante e quasi sempre netta, e l'altra poco chiara nel suo significato e fugace, si capisce come i risultati ottenuti dai varî autori siano stati diversi a seconda che essi studiarono il pro-

blema valendosi dell'una o dell'altra ricerca o di tutte e due. Ed è allora chiaro che quegli autori che hanno dato sopratutto peso alla ipoglicemia da carenza, confermino il Mansfeld incondizionatamente (Alpern e Leites, Alpern e Besuglow, Jorns, Herxheimer, Dengel, Brancati, Sussi, Maugeri), abbiano essi eseguito la legatura dei dotti, efficace, o la legatura massiva dell'organo; mentre chi si è riferito alle modificazioni della iperglicemia provocata non crede di acconsentire, per qualche dato incostante e transitorio (Caccuri, Nather, Priesel e Wagner). Se si osservano però i protocolli sperimentali di questi autori, si nota in essi pure una netta diminuzione della glicemia a digiuno; onde si può dire quasi generale l'accordo su questo, su cui il Mansfeld stesso particolarmente insiste.

Singolare interesse rivestono, fra le altre, le ricerche di Herxheimer e Carpentier, in quanto forniscono uno degli esempi più chiari di ipoglicemia da iperinsulinismo sperimentale. Questi autori, con l'intendimento di completare le loro ricerche sulle isole di Langerhans mediante gli esami funzionali, avevano seguito la glicemia di polli, a cui avevan praticato la legatura del dotto escretore principale del pancreas. Ebbero così a notare nella maggior parte dei casi dopo 6-8 settimane una diminuzione della glicemia ben perseguibile ancora attraverso forti oscillazioni (da 2,43 e 1,13%); in uno poi nel quale eran riusciti a legare tutti e tre i dotti si ebbe dopo 36 giorni una glicemia del 0.19 %, poco influenzabile dall'adrenalina, accompagnata da convulsioni, che ridusse il pollo in fin di vita. L'esame istologico aveva dimostrato, nella porzione legata ed atrofica, isole straordinariamente grandi e numerose, in parte rigenerate dal tessuto acinoso; non quindi un'« inselartige Gebilde » come dice Ukai, ma isole vere e proprie (Herxheimer, Renaut, Ogata). Harpuder dai pancreas atrofici dei polli di Herxheimer e Carpentier estrasse poi l'insulina col metodo di Noothmann. E, mentre dal pancreas dei polli cui si era legato il solo dotto principale ne ottenne una quantità pressochè uguale a quella dei controlli, dall'ultimo, dove i tre dotti eran stati legati, ne ricavò il quintuplo, dosato biologicamente nel coniglio.

Ricordo ancora che in Italia han ripetuto le ricerche di Mansfeld: Caccuri, che, in base alla quantità di zucchero libero e combinato nel decorso dell'iperglicemia provocata dall'iniezione endovenosa di 1 gr. di glucosio per kg. del peso del corpo, conclude per una maggior produzione di insulina, pur trovando aumento dei corpi chetonici nel san-

gue e nelle urine, alterazioni regressive nel tessuto Langerhansiano senza iperplasia nè neoproduzione insulare; Sussi, che conferma i reperti di una ipoglicemia dopo digiuno di 24 ore, più spiccata prolungandolo di 2 giorni; di curve glicemiche ad acme più basso: tolleranza quindi per gli idrati di carbonio notevolmente aumentata; Maugeri, che osserva ipoglicemia a digiuno, isole accresciute di volume ed aumento di una sostanza ipoglicemizzante del sangue, non identificabile con l'insulina.

Brancati, a sua volta, in cani con pancreas a dotti legati, ha verificato subito dopo l'atto operativo, una diminuzione della glicemia, che si rende più manifesta verso la fine del primo mese, per risalire poi in alcuni, probabilmente in seguito al ricanalizzarsi dei dotti. All'esame istologico egli ha notato un aumento delle isole e degli elementi interstiziali, derivati dagli acini atrofici, che, in più intimo rapporto colla rete vasale, nel mutamento di relazione, modificherebbero pure la propria funzione. Alla ipoglicemia quindi, conclude Brancati, corrisponde l'iperinsulinismo, alla diminuzione della secrezione esterna un aumento di quella interna.

Accennerò infine che, interpretando molto favorevolmente i dati sperimentali, l'atto chirurgico, condotto secondo i dettami tecnici del Farmacologo di Pècs, fu più volte praticato sull'uomo: a Gratz da Linhard, a Budapest da Hüttl. Furono scelti all'uopo casi di diabete giovanile, pensando che qui le alterazioni a carico del pancreas non fossero tanto profonde da frustrare l'intervento. Un altro caso ci è riferito da de Takàts e Wilder: un ragazzo di 13 anni, nel quale gli autori, con una tecnica simile a quella da me adottata in alcuni gatti, isolarono un tratto di pancreas con termocauterio. Sui casi operati da Linhard e Hüttl ci mancano dati precisi a ben vagliare i risultati ottenuti, per quanto i due chirurghi se ne dichiarino soddisfatti. Nella nota di de Takàts e Wilder vediamo, riassumendo, che mentre prima dell'operazione (1 gennaio 1929) il ragazzo pesava 40 kg e richiedeva 40 unità cliniche di insulina pro die nei primi giorni dopo l'operazione (20 gennaio 1929) si dovette salire a 50,55 U.Cl per ritornare il 27 giugno a 39 U.Cl. Il peso che aveva toccato i 31 kg era in questo periodo risalito a 36,3 ed il paziente si era fatto ipersensibile all'insulina. Riporto ora le conclusioni: « The operation promote hypertrophy of the islet tissue of the pancreas and couraging ». In tesi generale, siccome già due anni sono passati anche dagli interventi di Linhard e Hüttl, senza che i chirurghi si siano defi-

nitivamente orientati in merito, possiamo credere che sia almeno subentrata una più fredda valutazione; qualora non si voglia, per i controlli sperimentali incerti e passeggeri ottenuti da De Takàts e collaboratori, sostenere invece che l'uomo risponda meglio ed in modo più dimostrativo del cane alla legatura parziale, massiva del pancreas.

Purtuttavia se di un trattamento chirurgico antidiabetico colla tecnica operatoria del Mansfeld oggi non sembra il caso di parlare, restano i dati sperimentali, che, confusi e variamente interpretati dai singoli autori, meritano però revisione in ispecie dopo i risultati poco incoraggianti del cimento clinico, dal quale il Mansfeld stesso si riprometteva i migliori successi; donde l'opportunità di uno studio metodico dell'argomento.

Voglio qui porre bene in chiaro i dati biologici sui quali ci si può fondare per emettere un giudizio sulla portata dell'atto operativo eseguito. Ricorre spesso nella letteratura sull'argomento il termine di ipoglicemia da carenza: con tale determinazione indico col Mansfeld la caduta della glicemia che si osserva dopo un digiuno di 2-3 giorni negli animali operati, caduta che è analoga a quella che si riscontra in animali normali dopo lo stesso periodo di digiuno, quando si inietti insulina. Nei lavori dei vari autori si nota infatti che, mentre per lo più i cani normali non dimostrano alcuna ipoglicemia anche dopo 2-3 giorni di digiuno, gli stessi, dopo l'operazione, la presentano di regola in modo evidente. Si devono poi considerare le curve glicemiche dopo introduzione di glucosio, per le quali, come già ebbi occasione di rammentare, la designazione di « fenomeno di Mansfeld », per alcune caratteristiche volta a volta diverse nei singoli autori, ha cagionato equivoci. Ad eliminare i quali ricorderò, dalla letteratura sull'argomento, che le curve glicemiche, se talvolta presentano ipoglicemia iniziale al posto dell'iperglicemia solita dopo mezz'ora dalla somministrazione di glucosio, (Caccuri, Mansfeld), e tal'altra mostrano reazioni postiperglicemiche veramente straordinarie, (Mansfeld, Alpern e Besuglow, Jorns, Nather, Priesel e Wagner) hanno tuttavia come carattere più costante quello, già rilevato dal Mansfeld: di un aumento della glicemia meno spiccato di quello osservato prima dell'operazione. A chi ora pensi che questi tre tipi di curva sono stati dagli autori indistintamente chiamati « fenomeno di Mansfeld », e che ve ne sarebbe pure un quarto, e solo legittimo, secondo il parere dello stesso Mansfeld, e cioè la ipoglicemia da carenza, riesce esplicita la confusione notata nei lavori e nelle conclusioni dei varî autori.

Dirò subito che le curve glicemiche, che pur danno preziosi indizi sul metabolismo idrocarbonato nei diabetici, parrebbero (Mansfeld) inadeguate qui a stabilire un giudizio sereno sulla portata della increzione insulare. Analogamente a quanto risulta dagli esami clinici, si dovrebbe avere un'iperglicemia minore e di più breve durata dopo introduzione di glucosio, indice di un migliorato e rapido metabolismo ed inoltre, in base alle nuove cognizioni sperimentali sulla regolazione della funzione insulare (Staub), una reazione postiperglicemica assai spiccata, (Depisch, Hasenhörl).

Esperimenti

Ho eseguito, dal marzo 1929 all'aprile 1930, in 6 cani una serie preliminare di esperimenti, che fan parte di un esteso piano di ricerche riguardanti il problema della terapia chirurgica del diabete mellito, consistenti in legature massive del pancreas, dirette ad isolarne una porzione ben vascolarizzata. Ho scelto di proposito cani giovani, perchè, intendendo provocare in essi uno stato di iperinsulinismo, con eventuale iperplasia insulare e neoformazione di tessuto Langerhansiano, mi pareva che quelli fossero nelle migliori condizioni a realizzarlo. Ed ho legato di preferenza la coda del viscere, perchè in questa appunto già di norma il tessuto insulare è più ricco.

Ho compiuto sugli animali operati ricerche chimiche, allo scopo di studiare in essi la funzione endocrina del pancreas; e, subito dopo morte, ho eseguito indagini istologiche sul pancreas ed altri organi.

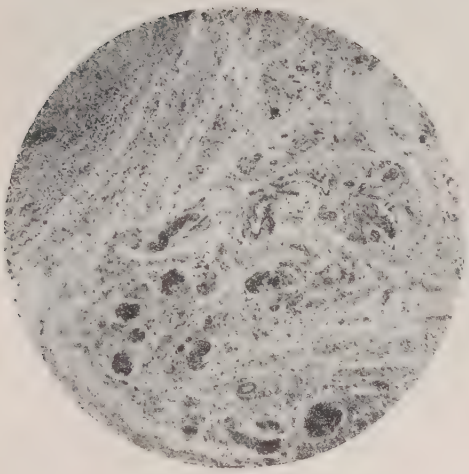
1) *Tecnica operatoria.* In anestesia morfinica, eccetto il primo cane che fu cloroformizzato, praticavo per strati una incisione xifoombelicale. Aperto il peritoneo, estrinsecavo sui bordi di ferita l'adipe preperitoneale, che asportavo in fine regolarmente, prima di richiudere. Accertata la normalità delle condizioni endoaddominali, mobilizzavo il segmento piloro-duodenale, recidendo i tratti più robusti del piccolo epiploon ed esteriorizzavo il corpo del pancreas. Rovesciato il duodeno in alto, controllavo sulla faccia posteriore di esso il dotto di Santorini, di solito il più grosso. Andavo, là dove il coledoco scompare nella parete posteriore del duodeno, a ricercare il dotto di Wirsung e lo recidevo fra due legature. Isolata allora l'arcata vascolare pancreatico-duodenale con un « finder » per circa 2 cm. (allo scopo di evitare che tirando il laccio questa s'inginocchiasse e la vena specialmente venisse esposta alle probabilità di una trombosi), passavo, a monte dello sbocco del coledoco, sotto i vasi un filo di seta molto grosso col quale legavo il pancreas, stringendo il nodo così da non tagliare il tessuto. Recidevo poi il filo a capi lunghi per facilitarne il ritrovo. Isolavo in tal modo completamente dal duodeno l'estremo splenico del pancreas, nei riguardi della sua secrezione esterna, mentre parte del corpo, la testa ed il processo uncinato versavano ancora nell'intestino il loro secreto per il dotto di Santorini. Nel cane 3 ho legato invece in massa, passando il laccio sotto i vasi pancreatico-duodenali, la testa e la coda del pancreas, appena sotto ed immediatamente al disopra dei dotti di Santorini e di Wirsung rispettivamente, attraverso i quali il corpo del viscere quindi conservava ancora un discreto apporto di enzimi digestivi al duodeno. Previo controllo della scrupolosa esattezza tecnica dell'intervento, richiudevo in fine l'addome con triplice sutura: peritoneo e muscoli con catgut, pelle in seta.

2) *Indagini chimiche. — Esame della funzione endocrina del pancreas.* Per eseguire questo esame determinavo anzitutto negli animali per qualche tempo la glicemia dopo 24 ore di digiuno e quella dopo 2-3 giorni di digiuno; dirò più precisamente la glicemia minima da digiuno, poichè il più spesso, scesa a tale cifra, la quantità di glucosio risaliva. Tale ricerca precauzionale eseguivo anche, secondo il consiglio del Mansfeld, per scartare i cani che già presentassero spontaneamente il fenomeno, che intendevo provocar con l'intervento operatorio.

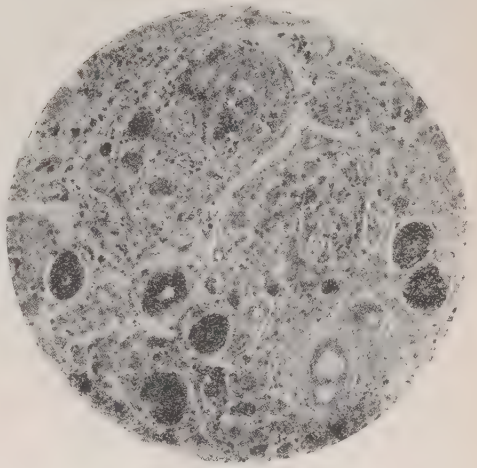
Prelevavo il sangue sterilmente dalla vena safena e dosavo il glucosio col metodo colorimetrico di Folin-Wu. Studiavo inoltre il modo di comportarsi della glicemia dopo introduzione di glucosio per bocca nella proporzione di 1,75 gr. sciolti 2,5 cmc. di acqua per kg. del peso del corpo. Poscia eseguivo negli animali la legatura in massa con la tecnica sopra descritta. Ripetevo poi tutti gli esami suddetti e con le stesse modalità dopo l'intevento, di tempo in tempo, per indagare le eventuali modificazioni indotte dall'atto operatorio. Continuavo sempre l'esame della ipoglicemia da digiuno per 2-3 giorni. Precisavo di solito la glicemia 24 ore dopo l'ultimo pasto, talvolta dopo 6, 12, 18 ore. Pure dopo 24 ore di digiuno stabilivo le curve glicemiche dipendenti dall'introduzione di glucosio; altre volte eseguivo la ricerca dopo 2-3 giorni di astinenza, in pieno periodo ipoglicemico.

Per esaminare la funzione endocrina del pancreas, oltre che studiare la glicemia a digiuno o dopo introduzione di glucosio, determinavo la quantità di insulina eliminata con le orine. Seguivo a questo scopo la tecnica di Collip. Facevo cioè evaporare a bagnomaria a 60° C. una quantità misurata di orina, ottenuta dai cani mediante cateterismo. Estratto il residuo con 10 cm^3. di alcool a 80° per 1/4 d'ora a 60° C., filtravo l'estratto alcoolico che facevo poi evaporare lentamente a bagnomaria a 40° C.; estraevo di nuovo il residuo per 10' con 10 cm^3. di etere a 40° C. e dopo aver allontanato l'estratto etereo, scioglievo il residuo stesso in 5,10 cm^3. di acqua distillata. Ottenevo così un liquido limpido citrino, che iniettavo sotto cute in conigli di 2 kg. circa, digiuni da 12 ore; dopo 1 ora e dopo 2 ore dall'iniezione determinavo col metodo di Folin Wu il glucosio nel sangue prelevato da una vena dell'orecchio. Per una più esatta valutazione dei risultati sperimentali è da tener presente che l'estratto preparato nel modo suddetto contiene anche un po' di creatinina, sostanza di per sè iperglicemizzante (Partos).

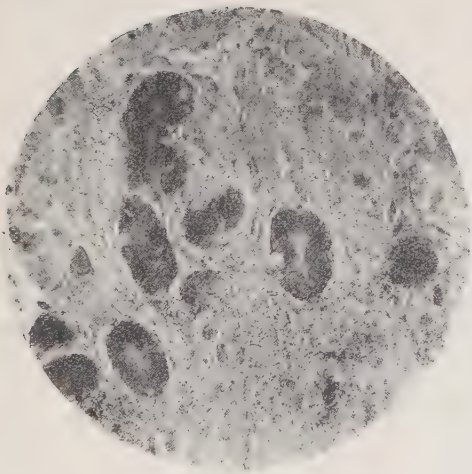
Infine ricercavo la quantità di glicogene contenuto nel fegato. Eseguivo tale ricerca col metodo di Pflüger. Ucciso l'animale per dissanguamento, asportavo il più rapidamente possibile il fegato, che pesavo e tritavo finemente colla macchina tritacarne. Prelevavo poi 20 gr. della poltiglia che ponevo in un palloncino contenente 20 cm^3. di soluzione di KOH al 60% e scaldavo il tutto per 2 ore a bagnomaria. Lasciavo raffreddare, aggiungevo 40 cm^3. di acqua distillata, versavo il miscuglio in un cilindro graduato da 200 cm^3., portavo con acqua distillata a 80 cm^3.; aggiungevo 80 cm^3. di alcool a 96°; lasciavo sedimentare il precipitato di glicogeno che si era così formato per alcune ore; lo raccoglievo su di un filtro dove lo lavavo con un miscuglio di un volume di soluzione di HOH al 15 % e 2 volumi di alcool a 96°; infine lavavo ancora brevemente il precipitato sul filtro con alcool a 96° per farlo coartare. Scioglievo poi il precipitato sul filtro con acqua calda e neutralizzavo il filtrato con HCl. Al liquido neutro aggiungevo ancora HCl e acqua distillata fino ad ottenere un volume di 200 cm^3.; lo filtravo e nel filtrato dosavo il glucosio mediante il polarimetro, dopo essermi assicurato col liquido di Fehling e di Nyländer che il filtrato contenesse veramente glucosio. Moltiplicando la quantità di glucosio trovata col polarimetro per 0,927 ottenevo quella del glicogeno contenuta in 20 gr. di poltiglia epatica.



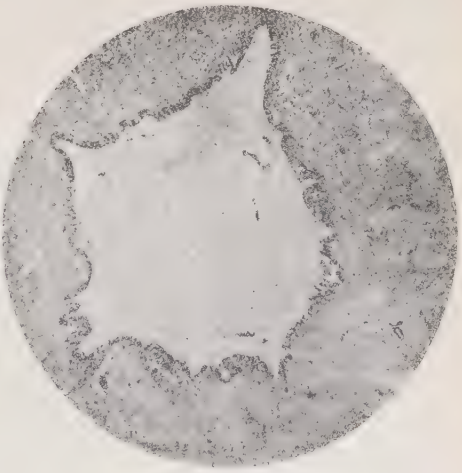
Microfotografia 1



Microfotografia 2



Microfotografia 3



Microfotografia 4

Microfot. 1. — Scleroatrofia della porzione di pancreas legata. (Obb. 4. Oc. 3, micr. Koristka).
Microfot. 2. — Metamorfosi pseudoinsulare del tessuto esocrino. (Obb. 5, Oc. 3, Koristka).
Microfot. 3. — Un particolare della microf. 2, a maggior ingrandimento. (Obb. 8*, Oc. 3, micr. Koristka).
Microfot. 4. — Dotto centrale molto dilatato; atrofia dell'epitelio di rivestimento. (Obb. 4, Oc. 3, micr. Koristka).

3) *Indagini istologiche.* — Fissavo frammenti di singoli organi, appena tolti, in sublimato alcoolico-acetico per le colorazioni comuni, conservando i pezzi d'autopsia in formalina salata di Policard. Fissavo inoltre porzioni di fegato, prelevati in diversi punti fra loro lontani, in alcool assoluto per la ricerca del glicogeno con il metodo di Vastarini-Cresi e di porzioni surrenale in liquido di Wiesel per il metodo omonimo. Per il pancreas infine mi valevo di un metodo di colorazione speciale da me ottenuto dopo numerosi tentativi, metodo che io credo finora il più rispondente allo scopo. Fissavo cioè piccole porzioni di pancreas per 24, 48 ore a seconda delle dimensioni in:

Sublimato	gr.	7,5
Bicromato K puro	»	3,0
Formol Schering	»	20,0
Cloruro di Na	»	0,5
Acqua distillata fino a cm^3.		200

Dopo accurato lavaggio in acqua di fonte per togliere l'eccesso di bicromato, includevo i pezzi con la solita tecnica in paraffina.

Lasciavo poi le sezioni per 24 ore a temperatura ambiente in una soluzione di:

Rosso di acridina	gr.	0,25
Verde di metile	»	0,05
Alcool metilico	»	5,00
Glicerina	»	20,00
Acqua distillata fino a cm^3.		100 (Stropeni)

a cui aggiungevo al momento dell'uso due goccie di una soluzione satura in alcool assoluto di violetto neutro di genziana, ottenuto mescolando il violetto di genziana comune, acido con Orange G fin che la soluzione avesse raggiunto la neutralità, come potevo arguire dal fatto che una goccia di essa, posta su carta assorbente, dava intorno al colore neutro che precipitava, un alone quasi scolorato; differenziamento in alcool assoluto; xilolo.

Il protoplasma appariva rosso vivo, i nuclei verde pallido in tutto il tessuto acinoso: i granuli di zimogene viola intenso nelle cellule e nei dotti, il tessuto insulare distintissimo in violetto tenue con sfumature di giallo.

Risultati sperimentali

Riporto qui appresso i protocolli dei singoli esperimenti da me eseguiti. Ad ognuno di essi sono uniti i risultati delle indagini istologiche praticate sugli animali. Nelle cinque tabelle poi sono esposti i risultati delle analisi chimiche relative all'esame della funzione endocrina del pancreas.

Cane N. 1: kg. 11. Operato, in anestesia morfiocloroformica il 24-VI-1929, di legatura in massa del pancreas all'altezza del piloro e di recisione fra due legature del Wirsungiano. Decorso post-operatorio complicato da vomiti ripetuti i primi 2 giorni, poi da qualche raro conato e rigurgito a carattere biliare. Congiuntivite mucopurolenta. Comincia a nutrirsi il 28-VI-1929. Il 2-VII al mattino è trovato morto con abbondante schiuma alla bocca. Alla necroscopia: Nulla al torace: aperto l'addome, che non presenta traccie di liquido, scollate aderenze recenti dell'epiploon con lo stomaco ed il fegato, si trova il pancreas congesto. La porzione legata si direbbe edematosa, un po' tumida. Il laccio è integro. I vasi pancreatico-duodenali sono in ottime condizioni. Ai reni: evidenti i segni di nefrite acuta.

All'esame istologico: nella porzione legata del pancreas dotti dilatati fino alle più piccole diramazioni: note d'infiltrazione prevalentemente leucocitaria e plasmacellulare, più intensa nelle zone circostanti alla legatura; componente

esocrina a cellule con aspetto torbido, isole ora ben conservate, ora no. Nulla di notevole agli altri organi.

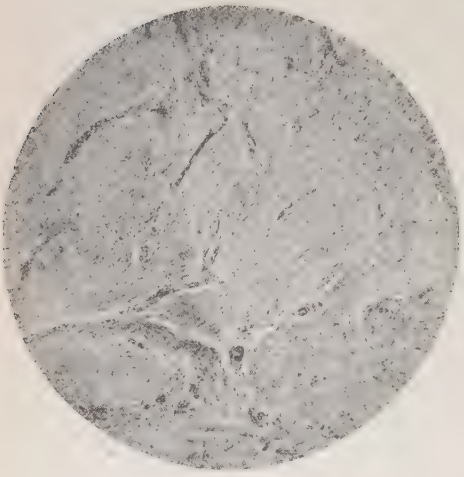
Cane N. 3: kg. 8,5. Operato il 10-VIII-1929, in morfioanestesia profonda, di legatura in massa del pancreas, passando il filo circa 2 cm. sotto lo sbocco del coledoco, e recisione fra due lacci del dotto di Wirsung. Decorso post-operatorio ottimo; il cane prende cibo fin dal giorno seguente all'atto operatorio; guarigione per prima. Vivace, ha sempre mostrato fame esagerata. Ucciso il 25-XI-1929 per dissanguamento, all'autopsia presenta nulla al torace. Cavo addominale asciutto. Aderenze gastroepatiche, gastrospleniche e duodenocolecistiche. La porzione di pancreas non legata appare ben conservata e di aspetto normale; quella esclusa dal duodeno è evidentemente sclerotica e ricorda le caratteristiche delle cosidette atrofie granulari. Laccio integro. Fegato di apparenza normale del peso di gr. 270. Glicogeno epatico assente (Pflüger).

Esame istologico. — *Tiroide*: al microscopio spiccano le vescicole ripiene di colloide, rivestite da un epitelio dove cubico e dove quasi lamellare. Relativamente al contegno cellulare si comporta pure il nucleo, riducendosi anche esso fino ad assumere talora caratteri di picnosi. La diminuzione di volume e dimensioni e l'uniformità di aspetto cellulare nella maggior parte delle sezioni in esame non consente una distinzione delle due serie di cellule follicolari. In qualche punto gruppetti cellulari, stipati di granuli, iniziano la formazione di nuove vescicole.

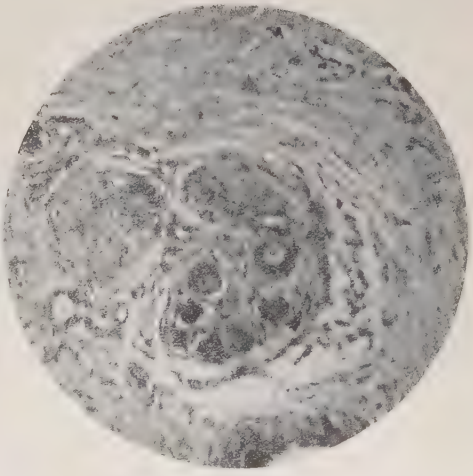
Gh. salivari: non offrono nulla da rilevare all'esame macroscopico.

I preparati istologici ottenuti con i metodi comuni fanno vedere lo spazio dell'acino interamente occupato dalle cellule secernenti, le quali sono cresciute in volume, pur conservando la propria forma. I nuclei sono respinti all'estremità basale della cellula; il protoplasma presenta granulazioni roseo chiare nelle parotidi. Su di uno sfondo uniforme si notano più accentuati i tratti che corrispondono alla membrana delle singole cellule: i granuli, minutissimi, si raccolgono spesso in zolle più o meno estese. Nelle sotto mascellari le semilune di Giannuzzi sono schiacciate dalle cellule mucose. Portando l'osservazione sui dotti escretori, essi appaiono normali nella loro costituzione nucleare e citoplasmatica; evidentissimi i caratteristici piccoli bastoncini. Il tessuto interstiziale delimita in modo appena visibile i singoli alveoli. Timo e paratiroidi normali.

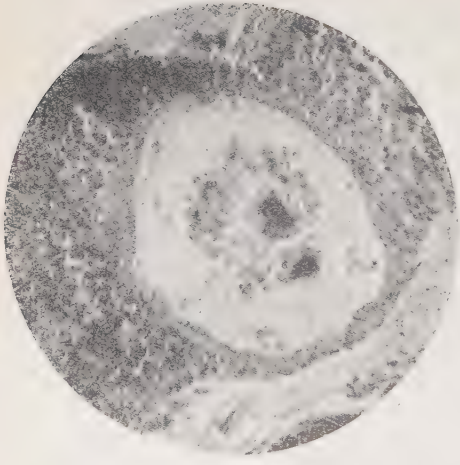
Pancreas: il pancreas, che nella porzione legata, presa per l'esame istologico, già macroscopicamente ed al taglio si presentava duro fibroso, ridotto ad un cordone di un cm. circa di diametro, d'aspetto pressochè tendineo, è tutto circondato da una spessa capsula di connettivo stivato. I fasci connettivali, nelle sezioni colorate col van Gieson, che in condizioni normali appena si disegnano, qui sono notevolmente ispessiti e pure cospicuo sviluppo ha in alcuni punti assunto il connettivo che si dispone tra i singoli acini. Il tessuto esocrino, che in pochissimi tratti conserva un protoplasma colorato in rosso dall'acridina e presenta ancora una disposizione tubulo alveolare tipica, mostra però cellule ridotte in altezza con pochi granuli violetti: la zona delle granulazioni è anzi frequentemente affatto scomparsa. Altrove, ed in vicinanza immediata, spesso si vedono invece aggruppamenti cellulari di tipo epiteliale che, nelle sezioni colorate secondo il metodo sopra descritto, pur non presentando più le caratteristiche della porzione esocrina, non hanno tuttavia ancora quelli della endocrina. E' un tessuto mal colorabile a protoplasma omogeneo, a nuclei rotondeggianti, con membrana nucleare evidente e grosso nucleolo in un traliccio cromatinico fine. Il protoplasma è in preda ad una vera disintegrazione granulosa, presenta limiti sfrangiati, indistinti; spesso l'una cellula



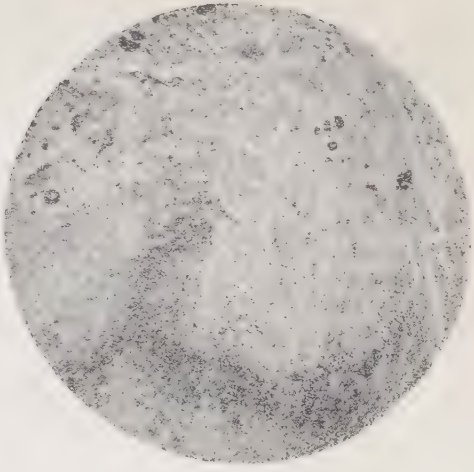
Microfotografia 5



Microfotografia 6



Microfotografia 7



Microfotografia 8

Microfot. 5. — Fibrosi della porzione di pancreas legata. (Obb. 4, Oc. 3, micr. Koristka).
Microfot. 6. — Ottima conservazione dei gangli nervosi. (Obb. 5, Oc. 3, micr. Koristka).
Microfot. 7. — Una cisti del timo. (Obb. 8*, Oc. 8 c., micr. Koristka).
Microfot. 8. — Sclerosi ed infiltrazione leucocitaria della porzione legata. (Obb. 4, Oc. 3, micr. Koristka).

si fonde con l'altra in gruppi dall'aspetto sinciziale, che fili tenuissimi di connettivo, rilevati con il Bielschowsky, sepimentano e delimitano: talora si nota pure picnosi nucleare. I dotti sono rivestiti da un epitelio atrofico, sfaldato in parecchie zone: altrove in attiva proliferazione rigenerativa; nessuna formazione cistica. Nella porzione non legata, gli acini ghiandolari sono stipatissimi, l'uno dall'altro separati da filamenti fibrillari di delicatezza estrema. Le isole di Langerhans, molto spiccate, sono provviste di cellule a protoplasma abbondante ricco di granulazioni molto fini, viola pallido e rosse; margini ben definiti con nucleo grosso ovalare, spesso ipercromatico: caratteri di iperfunzione insuloacinosa. Dotti escretori integri; connettivo interstiziale con fatti di infiltrazione leucocitaria nella immediata vicinanza della legatura.

Fegato: le cellule epatiche nei preparati allestiti coi metodi comuni si presentano disposte attorno alla vena centrale a raggiera, le singole travate divise da spazî vasali ampî, di volume rimpicciolito, a citoplasma oscuro, compatto, completamente occupato da minutissime granulazioni, in mezzo alle quali s'allogano uno due nuclei rotondeggianti. Si notano pure talora piccoli vacuoli che verosimilmente corrispondono alle scarse gocciole di grasso che la colorazione col Sudan metteva in evidenza nei pezzi fissati in formalina di Policard e sezionate al congelatore. Nelle sezioni trattate secondo il metodo di Vastarini-Cresi non si riesce a scorgere, con diligenti ricerche, traccie di glicogene. Evidentissima, con tale metodo, la tunica elastica dei piccoli e medi vasi. Gli spazi del Kiernan non presentano veruna alterazione. Nei punti più vicini alla Glissoniana o appena sottosierosi si vedono piccoli focolai di epatite interstiziale, in relazione forse con i fatti aderenziali descritti.

Surrenali: la zona glomerulare è ad anse molto sviluppate con citoplasma spongioso; la zona fascicolata e la reticolare sono ricche di granuli corticali. La midollare iperemica, dà con il metodo di Wiesel netta la cromoreazione per l'adrenalina.

Duodeno: numerosi nidi plasmacellulari nella sottomucosa. Plessi di Auerbach e di Meissner ben evidenti, di aspetto normale.

Milza: da notare una lieve iperplasia a carico sopratutto dei follicoli linfoidi, analogamente a quanto si riscontra nei gangli linfatici.

Reni: nulla di particolare.

Cane N. 3: kg. 20. Operato il 3-IX-1929, in anestesia morfinica profonda, come già dissi descrivendo la tecnica seguita, di legatura massiva della coda del pancreas a monte del Wirsungiano, lasciato pervio e di legatura massiva del processo uncinato 2 cm. a valle dello sbocco del dotto di Santorini, passando il laccio rispettivamente sotto i vasi pancreatico-duodenali superiori ed inferiori. Allacciature di due piccole vene. Decorso postoperatorio buono; guarigione per seconda della ferita cutanea. Congiuntivite muco-purulenta. Questo cane, che prima non mangiava molto, era qualche tempo dopo l'atto operatorio, sempre vorace. Ciò non ostante dimagrava continuamente (da 20 kg., a 17 kg. il 15 X, a 13 kg. il 15-XI-1929). Gli ultimi giorni poi non si reggeva più a lungo in piedi. Feci contenenti materiale alimentare non digerito, spesso diarrea. Trovato morto il 18-XI- 1929. Alla necroscopia: pannicolo adiposo sottocutaneo assente; notevole ipotrofia.

Torace: Miocardio bruno, flaccido; edema polmonare.

Cavo addominale: asciutto, aderenze lasse. Il pancreas mostra un nodo delle dimensioni di una grossa noce, nodo che corrisponde al corpo del pancreas, cioè alla porzione non legata. Da esso si dipartono due cordoni di aspetto fibroso, direi tendineo, verso l'estremo splenico da un lato e lungo il duodeno dall'altro. I due dotti sono pervî. Al taglio le porzioni corrispondenti alla coda del pancreas e al processo uncinato si mostrano, specie la prima, co-

stituite da un manicotto fibroso che attornia il dotto principale dilatato, delle dimensioni di uno stelo di penna d'oca. Dal suo lume esce un liquido mucoso, filante, di colorito giallo-chiaro. Il corpo del pancreas presenta due formazioni di tipo cistico, delle dimensioni di un pisello, a contenuto amorfo denso. Il fegato sembra piccolo e pesa gr. 700,9.

Glicogeno epatico: assente (Pflüger).

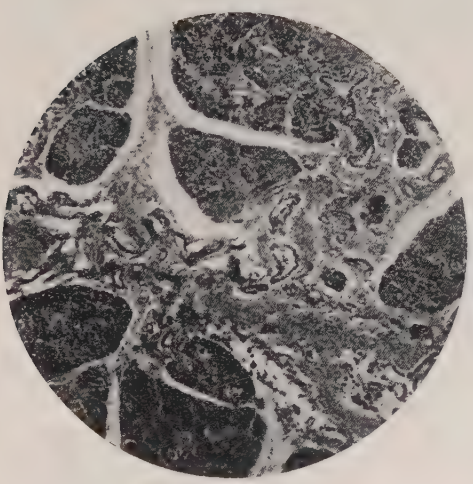
Esame istologico. — *Tiroide*: ha follicoli grandi, ricchi di colloide. La ghiandola di sinistra, al suo polo superiore mostra al microscopio, un noduletto che ripete la struttura delle paratiroidi.

Gh. salivari: presentano i caratteri già riportati sopra, simili a quelli noti delle ghiandole a riposo in animali digiuni (Missirolo).

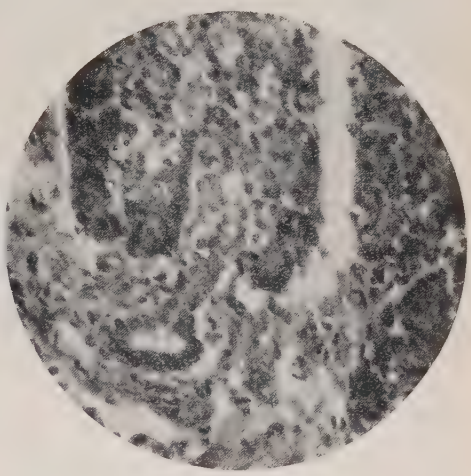
Pancreas: nelle zone legate presenta sparsi qua e là nel connettivo, che si serra loro d'attorno, numerosi gruppi cellulari di struttura epiteliale. Sono costituiti da cellule a nucleo piccolo ipocromatico, in un protoplasma tenue, povero e financo privo di granulazioni (Fig. 1). L'esame a maggior ingrandimento permette di rilevare che gli elementi ricordati si riallacciano attraverso tappe morfologicamente sicure ad altri gruppi cellulari, certamente classificabili fra quelli acinosi (Figg. 2 e 3). Si potrebbe, in altre parole, dire che la cellula esocrina, spogliandosi dei suoi granuli di secreto, va incontro ad un processo cronicamente atrofico, man mano perdendo le proprie caratteristiche per divenire dapprima un elemento a caratteri indifferenti (trasformazione insulare di molti autori) e da ultimo un vestigio indistinto, prima di scomparire. Portandoci ad esaminare le sezioni dell'estremo splenico legato spicca in esso il dotto centrale assai appiattito ad epitelio atrofico e attorno al quale il tessuto sclerotico a maglie un po' ampie nelle immediate vicinanze s'infittisce vieppiù verso la periferia (Figg. 4 e 5), dove si notano spazî chiari delimitati da un contorno di cellule, probabili resti di altri dotti escretori, forse i medi; mentre altrove vi sono accumuli di cellule piccole a nucleo esile a cromatina addensata in un citoplasma scarso omogeneo: probabili resti di piccoli dotti e di acini non affatto scomparsi. Da rilevare, nella sclerosi con intensa infiltrazione leucocitaria (Fig. 3), la conservazione di piccoli gangli nervosi, il che testimonia la nessuna o ben scarsa ripercussione dell'organo (Fig. 6). La zona ancor in connessione col duodeno, ha una lobulazione evidente e presenta al microscopio impalcatura connettivale più spiccata che di norma. Dotti alquanto dilatati rivestiti da epitelio normale; alcuni di essi sembrano esplicare un tentativo di rigenerazione in analogia a quanto si osserva più manifestamente nelle zone chiuse della legatura. Il tessuto esocrino è in molti lobi perfettamente conservato; in altri una lieve vacuolizzazione del protoplasma, il lume ampio pieno di secreto; le cellule di dimensioni ridotte e povere di granuli zimogenici attestano il ripercuotersi della mancata canalizzazione delle due zone legate su quella libera. Le isole che in pieno corpo del pancreas sono ben distinte e a cellule in attiva funzione, in prossimità delle legature, sono più piccole ed a protoplasma scialbo, omogeneo. Portando l'occhio poi su quelle formazioni a tipo cistico già ricordate, si nota che esse constano di una massa centrale amorfa, mal colorabile, che si continua con zone meglio conservate ad esile trama fibrillare e si perde senza alcuna membrana delimitante nei fasci connettivi a quella affluenti, pure ricchi di elementi d'infiltrazione. Il tessuto esocrino intorno è formato da cellule piccole con protoplasma ipercromico, senza granulazioni zimogeniche, con l'aspetto insomma di elementi esauriti; spesso anzi le cellule di confine sono sequestrate e in via di necrosi.

Timo e paratiroidi: normali.

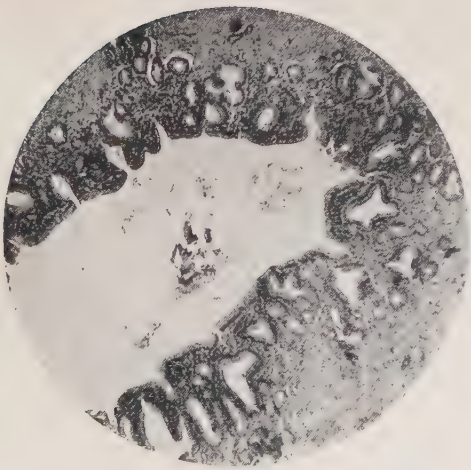
Fegato: le cellule epatiche hanno anche qui il citoplasma scuro, come ad-



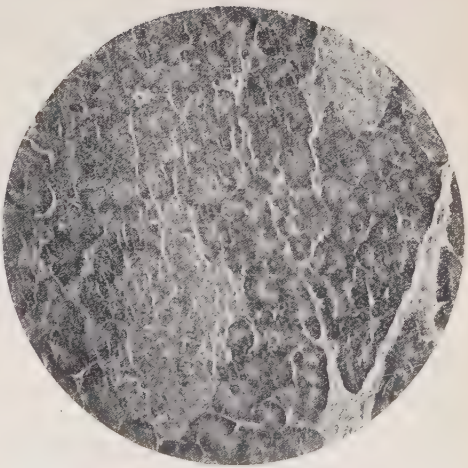
Microfotografia 9



Microfotografia 10



Microfotografia 11



Microfotografia 12

Microfot. 9. — Distensione dei piccoli dotti nei primi giorni dopo la legatura. (Obb. 4. Oc. 3, micr. Koristka).

Microfot. 10. — Un particolare della microf. 9 (zona punteggiata nella microf. 9) a maggior ingrandimento. (Obb. 7, Oc. 3, micr. Koristka).

Microfot. 11. — Rigenerazione dei dotti. (Obb. 5, Oc. 3, micr. Koristka).

Microfot. 12. — Isole di Langerhans nella porzione di pancreas non legata. (Obb. 5, Oc. 3, micr. Koristka).

densato che si è descritto in precedenza. Sono disposte in serie lineare radialmente attorno alla vena centrale e fra l'una e l'altra fila spiccano gli spazi capillari, ampi, in parte vuoti. Il connettivo è lievemente aumentato sopratutto negli spazi del Kiernan. I preparati allestiti col Sudan III accertano la presenza di fini goccíole di grasso nel parenchima epatico, mentre in quelli trattati secondo il metodo di Vastarini-Cresi non è dato scorgere del glicogene.

Surreni: corticale ben sviluppata; le cellule della zona fascicolata sono ricche di lipoidi (metodo Ciaccio). La cromoreazione è meno intensa che nel cane n. 2 (Metodo Wiesel).

Milza, duodeno, reni: normali.

Cane N. 4: kg. 9. Operato, in morfioanestesia profonda, il 7-IX-1929 di legatura in massa della coda del pancreas due cm. a monte dello sbocco del coledoco e di recisione del dotto accessorio fra due lacci. Decorso post-operatorio regolare; guarigione per prima. Lieve congiuntivite muco-purulenta i primi cinque giorni dopo l'intervento. Sempre affamato, non ha mostrato che lievi oscillazioni in peso: kg. 9,1-9,3.

Ucciso il 2-XII-1929, per dissanguamento, all'autopsia presenta: nulla al torace.

All'addome: aderenze lasse. Il pancreas è costituito da una porzione, che dallo sbocco del coledoco, si spinge verso la milza, fortemente atrofica, stridente al taglio, e da un'altra porzione che costeggia il duodeno ed è, de visu, normale. Il fegato pesa gr. 310, di consistenza e di aspetto normale. Nulla di notevole a carico degli altri organi.

Glicogeno epatico assente (Pflüger).

Esame istologico. — Tiroide e ghiandole salivari: offrono un aspetto simile a quello già descritto nei cani 2 e 3.

Timo: netta la distinzione tra corticale e midollare; timociti assiepati ma con caratteri normali. Colpisce anche ad un esame a piccolo ingrandimento la presenza di numerose cisti che verso il lume presentano un addensamento quasi cuticolare del citoplasma, più intensamente colorato con l'eosina, in molti punti talvolta per tutta la cisti rivestito da grosse ciglia libere o conglutinate in ciuffi da una sostanza che prende pure fortemente l'eosina (Fig. 7). Ricorderò che simili cisti sono state descritte da Verdun, Nicolas, Capobianco, Watney, Hammar nel cane e nel gatto, da Pensa negli anfibî anuri.

Paratiroidi: desidero ricordare solo la presenza anche in quest'organo di cisti analoghe a quelle ora descritte nel timo, che per quanto mi risulta dalla letteratura, furon viste da Nicolas nel gatto e da Edmunds nel cane; molto somiglianti a quelli che Pepere ha interpretato come canali paratiroidei.

Pancreas: la porzione legata, verso l'estremo splenico, è ridotta ad una tessitura uniforme di connettivo stivato (Fig. 4) in cui spicca il dotto principale, rivestito da un epitelio a cellule molto basse, con protoplasma vacuolare; nucleo piccolo con cromatina addensata; in alcuni tratti il rivestimento epiteliale è pressochè irriconoscibile. Non è dato rilevare elementi di tipo acinoso nè di tipo insulare. Portandoci ad esaminare sezioni di pezzi prelevati più vicino alla legatura si rivede il dotto centrale con i caratteri per esso già descritti. Verso il connettivo denso, che forma come una capsula attorno alla porzione legata, sclerotica, si notano ancora acini a cellule con protoplasma granuloso, mal colorabile, a limiti sfrangiati, indistinti, a nucleo talvolta completamente libero e tal'altra avvolto da residui citoplasmatici in forma di granuli isolati. In tutta vicinanza del dotto principale ed in pieno tessuto sclerotico si notano due gangli nervosi a cellule perfettamente conservate. La parte di pancreas non legata ha cellule acinose alte, che delimitano un lume piccolo, vuoto per lo più. Esse mostrano nei preparati ottenuti col mio metodo una

parte rivolta verso il lume chiara, con rari granuli violacei in alcune zone, ed una periferica colorata in rosso vivo dall'acridina. Al confine, fra le due, sta di solito il nucleo, colorato in verde, rotondo, a nucleolo grosso, membrana nucleare e cromatina ben differenziate. Le isole sono ottimamente conservate, a cellule ricche di granuli assai fini e con frequenza si notano nella compagine una o più cellule di tipo acinoso.

Fegato: ripete l'aspetto generale del parenchima epatico già descritto. Cellule in serie lineare, piccole, a limiti indistinti, grosso nucleo tondo, in alcune duplice. Con obbiettivi ad immersione il protoplasma appare finemente granuloso. Connettivo degli spazi del Kiernan abbondante. Nei preparati allestiti con la tecnica di Vastarini-Cresi non si riesce a metter in evidenza il glicogene.

Milza, duodeno, surrenali, reni: normali.

Cane N. 5: kg. 14,5. Operato l'8-IX-1929, in anestesia morfinica, di legatura del pancreas all'altezza dello sbocco del coledoco e di recisione del dotto di Wirsung fra due lacci. Guarigione della ferita cutanea per seconda. Congiuntivite mucopurulenta, che migliora però presto. Si fà sempre più evidente l'impalcatura della gabbia toracica. Ucciso il 7-XII-1929 per dissanguamento pesa kg. 10,6.

All'autopsia: nulla al torace. Cavo addominale asciutto; sezionata qualche aderenza, si ritrova il pancreas costituito, come nei cani precedenti, da una porzione ben conservata e da un'altra atrofica, grigio biancastra. Fegato di aspetto normale, pesa gr. 375.

Glicogeno epatico assente (Pflüger).

Esame istologico. — *Tiroide*: si notano campi dove i follicoli sono piccoli e non contengono che tracce di sostanza colloide, alternate con zone a follicoli invece in cui questa è abbondante.

Gh. salivari: cellule ripiene di secreto, in grado più cospicuo nelle ghiandole sottomascellari. L'epitelio dei dotti ha una striatura molto netta del protoplasma.

Timo: numerosi corpuscoli di Hassal.

Paratiroidi: normali.

Pancreas: il tratto legato mostra all'esame istologico un aumento rilevante del connettivo inter ed intralobare. Esso è costituito da elementi allungati, a nucleo fusato, a forte affinità cromatica. In alcuni punti gli epitelî degli acini sono ancora distinguibili come elementi ridotti in altezza a granulazioni ora tinte in rosso dall'acridina o, meno spesso in violetto, dalla genziana. Sono talvolta ancor disposte circolarmente a delimitare un lume che è notevolmente aumentato; tal'altra invece sono raccolte in gruppi di cellule con un piccolo alone residuo di protoplasma granuloso. che assume un colore fra il rosso ed il viola, con un nucleo vescicoloso, povero di cromatina e nucleolo rotondo, grosso. Le isole di Langerhans come formazioni sicuramente individuabili, sono scomparse. L'estremo splenico è pure qui formato da un tessuto scleroatrofico, dove niente più è rimasto del pancreas che alcuni elementi informi a nucleo impiccolito, ipercromatico, eccentrico od in cromatolisi, con scarsissimo protoplasma granuloso, senza nessun contorno cellulare, in un connettivo uniforme e stivato che ha sostituito tutto il parenchima ghiandolare dell'organo. Nelle sezioni trattate col Sudan III si notano alcune cellule piccole in degenerazione grassa. La parte non legata, è normale e presenta acini a cellule alte, costituite da due zone ben distinte, ricche di granuli viodotti escretori contengono un secreto pure violaceo, a volte uniforme, a volte letti, quelle che guardano il lume, nei preparati allestiti col mio metodo. I

granuloso. Le isole, grandi, sono costituite da elementi ben conservati, con protoplasma a granuli finissimi. I vasi mostrano modica iperemia.

Fegato: ha la struttura generale di quelli precedentemente descritti. Nei preparati ottenuti col metodo di Vastarini-Cresi non si mette in evidenza glicogeno.

Milza: a follicoli linfoidi iperplastici.

Duodeno, surrenali, reni: normali.

Cane N. 6.: kg. 10,5. Operato il 17-IX-1929 in anestesia morfinica profonda di legatura in massa del pancreas circa due cm. sotto lo sbocco del coledoco. Ucciso per dissanguamento il 16-XII-1929, pesa kg. 10,1. All'autopsia: reperto analogo ai cani precedenti. La porzione di pancreas esclusa dal duodeno è grigio biancastra, fortemente scleroatrofica; la parte non legata è di aspetto normale. Il fegato, più chiaro che non quello degli animali già riferiti, pesa gr. 270.

Il glicogeno, dosatovi col metodo di Pflüger 6 ore dopo un copioso pasto ricco in carboidrati, raggiunge il 5,4 %; la glicemia è 1,09 ‰.

Esame istologico. — *Tiroide, timo, paratiroidi* e *ghiandole salivari*: normali.

Miocardio e *polmoni*: normali, come pure quelli dei cani già descritti (cani N. 2, 3, 4, 5). *t*

Pancreas: la porzione legata è nel suo insieme simile ai reperti dati in precedenza. Atrofia estrema della componente acinosa e di quella insulare. Del parenchima epiteliale dell'organo non restan che gruppetti rari di cellule senza caratteri propri: elementi informi a scarso protoplasma in degenerazione granulo-grassosa. Le isole del Langerhans, come gli acini sono affatto scomparsi in quanto strutture ben individuate; i dotti maggiori son rivestiti da un epitelio atrofico. Il tratto non legato ha una struttura normale acino-insulare. Abbondanza nella componente esocrina di granuli violetti con la colorazione pancroma da me studiata; isole integre ricche di granulazioni finissime.

Fegato: con i metodi comuni le cellule poligonali, delimitate da confini nettissimi, quasi una vera membrana, sono grandi, tanto da nascondere in alcuni punti gli spazi vasali. Il corpo cellulare, percorso da un traliccio di maglie e granuli di varia grandezza, è occupato da una sostanza chiara, d'aspetto vitreo. Sembra che la cellula epatica abbia elaborato un prodotto, che ne impregna la compagine citoplasmatica, ridotta alla sottile rete ed ai granuli già ricordati. I nuclei, vescicolosi, spesso duplici, a cromatina evidente, sono nella cellula, che sembra avere esagerato la propria struttura, come compressi, rimpiccoliti, intensamente colorati, qualcuno a contorni irregolari. Nei preparati ottenuti col metodo di Vastarini-Cresi si può riconoscere la sostanza vitrea descritta sopra, come glicogeno.

Milza, duodeno, surrenali, reni: normali.

Testicoli: in tutti gli animali osservati non hanno mostrato variazioni strutturali degne di rilievo, se si eccettui in qualcuno una spermiogenesi poco attiva (Cani 3.5), che, tenendo presente il margine individuale, sopratutto in questo campo, credo sia difficile possa avere un significato particolare.

Discussione dei risultati sperimentali

Nel corso delle mie ricerche, i dati sperimentali che man mano andavo raccogliendo, parevano dirigere verso le conclusioni del Mansfeld,

e degli autori che ne condividono le idee. A chi osservi le tabelle qui annesse è facile infatti notare dopo l'operazione una glicemia minore che prima, una ipoglicemia da carenza, costante, se pur non sempre spiccata; le curve glicemiche dopo introduzione di glucosio, se non hanno mai mostrato ipoglicemia anzichè iperglicemia, oppure non hanno mai presentato forti ipoglicemie postiperglicemiche, dimostrano però un'acme più basso di quello osservato prima dell'operazione. Avrei potuto consentire col farmacologo di Pecs nell'affermare che la legatura massiva del pancreas ha modificato la glicemia dell'animale, abbassandola di livello; ha reso il cane più tollerante verso la stessa quantità di glucosio, data per bocca. Ma un esame più approfondito e più esteso del difficile problema mi poneva quesiti nuovi, che male si potevano accordare con il concetto di « iperinsulinismo » già sospettato; e mi spingeva anzi, direi, ad un'interpretazione opposta.

In alcune ricerche preliminari eseguite su gattini sacrificati a varia distanza di tempo dalla legatura massiva della coda del pancreas, con la tecnica precisa del Mansfeld, la minuta lettura dei preparati istologici dell'organo mi dimostrava che le isole si comportavano in modo assai diverso da quanto comunemente si ammette. Allo scopo di seguire l'evoluzione morfologica, della porzione di organo esclusa e di quella che ancora versava nel duodeno il proprio secreto, avevo praticato la legatura in massa del pancreas in 12 gattini di 30-40 giorni di vita in media. Questa giovane età doveva mettere meglio in evidenza l'effetto finale dell'intervento, dato che questo era stato praticato in un organo in via di evoluzione e pertanto dotato di forti poteri di adattamento. In altre parole, se molti fatti dell'embriogenesi, come Maurer, Mansfeld, Goljanitzki, ed altri sostengono, stanno a dimostrare che ghiandole a secrezione interna (tiroide, ipofisi) hanno in un periodo del loro sviluppo un dotto escretore, alla obliterazione del quale succede l'attività endocrina, per cui questa non sarebbe che la continuità alla soppressione di quella esterna, il fenomeno avrebbe dovuto prodursi più nettamente in un organo ancora in via di assetto.

Riassumerò i dati più importanti da me rilevati negli animali.

A quindici giorni dalla legatura, aperto l'addome, si notava la zona di pancreas esclusa lievemente tumefatta, di aspetto edematoso, macroscopicamente però simile alla parte normale. All'esame delle sezioni spiccano i dotti escretori dilatati, ripieni di cellule sfaldate, i più piccoli fra loro addossati ai

confini con l'acino, in una disposizione tale da ricordare in molti punti il tessuto insulare, (Figg. 9 e 10). Le cellule esocrine sono come schiacciate; il nucleo, mal colorato, è spinto alla periferia, dove s'è ridotto il citoplasma fondamentale, in un orletto che prende elettivamente il rosso dell'acridina. Delle isole, le cellule si presentano dove un po' rigonfie, a limiti indistinti, e dove invece piccole e a nuclei picnotici, in un protoplasma scarso, granuloso, a limiti sfrangiati.

Ad un mese dall'intervento la parte legata è già visibilmente atrofica, grigio-biancastra, in contrasto con la parte opposta, ben irrorata e di aspetto normale. Al microscopio i dotti si presentano dilatati, coll'epitelio spesso desquamato o appiattito, i lobuli circondati da connettivo giovane; gli acini conservano ancora la loro forma; le singole cellule, rimpicciolite, mostrano qua e là vacuoli nel protoplasma, nuclei in cariolisi: altre poche sono stipate di granuli. I corpi di Pacini, i ganglietti nervosi sono ovunque ben conservati, i follicoli linfoidi iperplastici. Le isole di Langerhans sono poco riconoscibili; le cellule , a limiti indistinti, raggrinzate con vacuoli: i caratteri proprii degli elementi sono scomparsi.

A due mesi e, in modo anche più spiccato, a tre, il pancreas legato si mostra all'esame esterno fortemente atrofico, granulare, duro al taglio. In sezione microscopica la sclerosi periacinosa è evidentissima, così che il tessuto ha un aspetto come alveolare. I singoli alveoli sono costituiti da piccoli dotti dilatati, e da cumuli epiteliali. In alcune cellule la colorazione pancromica lascia ancora scorgere qualche granulo colorato in viola; in altre spiccano granuli colorati intensamente in rosso coll'acridina, simili a quelli che si riscontrano nella parte esocrina del pancreas normale. Altre cellule ancora sono rappresentate da un nucleo povero di cromatina, con un vestigio di protoplasma attorno. Esse spiccano nel connettivo, che domina ovunque, e danno a prima vista l'impressione di isole, se non che ad un esame accurato con ingrandimento maggiore risultano provenire da acini estremamente atrofici, cui è possibile ricondurli per fasi di passaggio. Rarissimi gruppetti più verosimilmente interpretabili come isole anche per la vascolarizzazione più ricca, è dato scorgere là dove il tessuto acinoso, forse per aver ritrovato una via di sbocco, è meglio conservato. I dotti principali sono fortemente dilatati, l'epitelio di rivestimento forma un tenue velo che ne tappezza l'interno; a volte si scorgono tentativi di formazione di nuovi dotti (Fig. 11).

A cinque mesi la zona sottoposta a legatura massiva è ridotta, specie verso l'estremo splenico, ad un cordoncino fibroso, dove l'esame microscopico non dà a rilevare che addensamenti epiteliali, in preda ad atrofia avanzata. Molte cellule sono costituite da un esile alone protoplasmatico, che circonda un grosso vacuolo. Il nucleo, pure appena accennato, è spostato alla periferia. Nessuna traccia di elementi indubbiamente Langerhansiani.

In un gatto morto in cachessia verso la fine del nono mese non sono più riuscito a ritrovare all'autopsia la parte di organo legata. Solo ho notato un nodetto durissimo, appena a valle del piloro. Un'incisione praticata mi dimostrò ch'era costituito dal filo di seta incapsulato. Fissai allora il nodo, ed all'esame delle sezioni non riscontrai che vasi e qualche corpuscolo di Pacini, in un tessuto fibroadiposo, dove un esame assai diligente mi fece ritrovare poche cellule stivate, probabile testimonianza dell'organo quasi del tutto sostituito.

Nei preparati non vidi mai figure cariocinetiche. In tutte le sezioni, e tanto più quanto più l'autopsia era recente, si aveva infiltrazione leucocitaria e plasmacellulare del connettivo.

I gatti sono rimasti sempre assai magri, nonostante una vera bulimia.

La zona di pancreas risparmiata dalla legatura e sempre in connessione col duodeno, si mostrò in genere ingrossata, relativamente alla parte omologa legata; ed a quella dei gatti di controllo. Sempre ben evidente la lobulazione del tessuto acinoso, che aveva un aspetto roseo chiaro. All'esame microscopico la componente insulare spiccava nettamente su quella acinosa, che era a volte ricca di granuli violacei, in preparati allestiti col mio metodo a volte più omogeneamente rossa. I dotti erano spesso pieni di secreto, non dilatati. Nelle zone prossimiori alla legatura invece gli acini erano mal conservati, il connettivo più abbondante, le isole davano l'impressione di essere quelle che più soffrivano delle nuove condizioni. Più lontano la struttura acinosa era perfetta: nelle cellule talvolta si osservavano due zone: una interna a granuli più grossolani e violacei, l'altra esterna a granuli più fini e intensamente rossi; in quest'ultima o ai confini fra le due si trovava il nucleo, a massa cromatinica netta abbondante. Le isole risaltavano per la loro minore affinità tintoriale e per il loro volume che sembrava aumentato, nei confronti dei controlli (Fig. 12). Erano costituite da ammassi cellulari il più spesso regolarmente rotondeggianti, a contorni regolari; talora allungati, a limiti indistinti, con propaggini che si insinuavano fra gli acini, sicchè talvolta si notava anche qualche cellula nettamente acinosa in pieno tessuto insulare. Tali imagini, da Abruzzese, sono state interpretate come segni di un'attività espansiva, eccentrica, insolita dell'isola. Le singole cellule assiepate e stipate l'una all'altra erano in molte isole tondeggianti, a nucleo piccolo, ricco di cromatina, a protoplasma assai sbiadito, talora con finissimi granuli rossi. Si notavano anche, meno frequentemente però, cellule più grosse, a protoplasma chiaro, omogeneo, più abbondante, povero di granuli, con nucleo vescicoloso, a più nucleoli. Ed era facile, in talune isole, osservare cellule a protoplasma decisamente acidofilo e con prolungamenti che decorrevano fra gli elementi Langerhansiani e che probabilmente rappresentavano elementi di sostegno (Fichera).

TABELLA I

Glicemia nei cani normali durante il digiuno

Numero dell'esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Data	Grammi di glucosio in 100 cm³ di sangue dopo un digiuno di 1 giorno	di 2 giorni	di 3 giorni
1	1	11,00	11-13-VI. 1929	0,86	0,86	0,88
2	»	11.00	21-23. VI	0,89	0,93	0,90
3	2	8,500	13. VII	0,99	1,02	1,08
4	3	20,00	28-30. VIII	0,83	0,81	0,94
5	4	9,00	30. VIII-1. IX	0,85	0,91	0,86
6	»	9,00	3-5. IX	0,85	0,86	1,06
7	5	14,500	1-3. IX	0,80	0,87	0,82
8	»	14,500	4-5. IX	0,91	0,95	0,99
9	6	10,500	7-9. IX	0,97	0,86	0,93
10	»	10,500	13-15. IX	0,84	0,92	0,95

TABELLA II

Glicemia nei cani normali dopo introduzione di gr. 1,75 di glucosio per kg. del peso del corpo

Numero dello esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Data	Giorni di digiuno	Grammi di glucosio in 1000 cmc. di sangue: prima dell'introduz. di glucosio	dopo l'introduzione di glucosio: dopo 1/2 ora	dopo 1 ora	dopo 2 ore	dopo 3 ore
1	1	11.00	15.VI	1	0.85	1.13	0.88	0.90	0.86
2	»	11.00	17. »	1	0.83	0.83	0.78	0.60	1.01
3	»	11.00	19. »	1	0.86	1.45	0.73	0.81	0.82
4	2	8.500	5.VIII	1	1.02	1.60	1.03	1.05	—
5	»	8.500	7. »	1	0.97	1.56	0.96	0.99	0.87
6	3	20.000	31.VII	2	0.89	1.31	1.20	0.90	0.83
7	»	20.000	21. X	1	0.84	1.38	0.85	0.84	0.79
8	4	9.00	5. »	1	1.06	1.42	1.05	1.07	0.87
9	»	9.00	6. »	1	1.02	1.61	1.03	1.00	0.96
10	5	14.500	6. »	1	0.84	1.47	0.86	0.86	0.90
11	»	14.500	7. »	1	0.85	1.48	0.90	—	0.78
12	6	10.500	14. »	3	0.87	1.53	1.91	1.79	0.91
13	»	10.500	16. »	1	0.95	1.35	1.01	1.00	0.85

TABELLA III

Glicemia nei cani operati durante il digiuno

Numero dello esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Data	Grammi di glucosio in 1000 cmc. di sangue dopo un digiuno: di 1 giorno	di 2 giorni	di 3 giorni
1	1	11.00	27-29.VI.1929	1.12	0.99	0 91
2	»	11.00	1.VII	—	0.67	—
3	2	8.200	17-19.VII	1.07	1.00	0.97
4	»	8.200	23-25.VIII	0.96	0.90	0.80
5	»	8.200	17-19.IX	0.80	0.69	0.53
6	»	8.700	7-9.X	0.77	0 57	0.49
7	»	8.700	16-18. X	0.70	0.52	0.63
8	»	8.900	5-7.XI	0.81	0.75	0.53
9	3	20.00	12.IX	1.00	—	—
10	»	20.00	25-26.IX	0.75	0.71	—
11	»	20.00	1-3.X	0.77	0.79	0.64
12	»	17.00	16-18.X	0.73	0.74	0.71
13	»	17.00	29.X	1.09	—	—
14	»	14.500	5-7.XI	0.74	0.60	0.57
15	»	13.500	13.XI	0.73	—	—
16	4	9.100	12.IX	1.25	—	—
17	»	9.100	17.IX	0.94	—	—
18	»	9.100	25.IX	0.89	—	—
19	»	9.100	1-3.X	0.79	0.62	0.57
20	»	9.100	15-17.X	0.77	0.68	0 54
21	»	9 300	5 XI	0.79	—	—

TABELLA III (*Continuazione*)

Glicemia nei cani operati durante il digiuno						
Numero dello esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Data	Grammi di glucosio in 1000 cmc. di sangue dopo un digiuno: di 1 giorno	di 2 giorni	di 3 giorni
22	»	9.300	6-7.XI	0.65	0.61	—
23	»	9.100	26-28.XI	0.54	0.51	0.71
24	5	14.400	11.XI	0.98	—	—
25	»	14.00	17.IX	0.87	—	—
26	»	14.00	25-IX	0.68	—	—
27	5	13.300	29.IX-1.X	0.73	0.79	0.68
28	»	13.500	7-9.X	0.71	0.66	0.55
29	»	13.500	16-18.X	0.76	0.68	0.59
30	»	10.800	5-7.XI	0.68	0.53	0.48
31	»	10.800	16.XI	0.95	—	—
32	»	10.800	29.XI	0.64	—	—
33	6	10,500	25.IX	0.93	—	—
34	»	10.500	1.X	0.69	—	—
35	»	10.500	4-6.X	0.78	0.73	0.65
36	»	10.500	16-18.X	0.79	0.54	0.59
37	»	10.400	5-7.XI	0.67	0.56	0.44
38	»	10.400	18-20.XI	0 61	0.63	0.48
39	»	10.400	29.XI	0.70	—	—
40	»	10.00	5-7.XII	0.56	0.45	0.61

TABELLA IV

Glicemia nei cani operati dopo introduzione di gr. 1.75 di glucosio per kg. del peso del corpo									
Numero dello esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Data	Giorni di digiuno	Grammidi gluosio i cn 1000 cmc. di sangue: prima della introduz. di glucosio	dopo l'introduzione di glucosio: dopo ½ ora	dopo 1 ora	dopo 2 ore	dopo 3 ore
1	2	8.500	20.VII.29	1	0.99	1.35	0.96	0.99	—
2	»	8.300	22.VIII	1	0.93	1.20	0.98	0.95	0.88
3	»	8.300	26.VIII	2	0.76	1.11	1.25	0.83	0.86
4	»	8.300	13.IX	3	0.65	1.30	1.71	1.63	1.01
5	»	8.500	15.IX	1	0.80	1.21	0.85	0.88	0.83
6	»	8.800	6.X	1	0.77	1.16	0.85	0.89	0.94
7	3	20,00	26.IX	1	0.85	1.41	1.10	0.95	0.91
8	»	20.00	23.X	1	0.81	1.31	1.15	1.11	0.80
9	»	13.00	30.X	1	0.73	1.09	0.91	1.05	0.85
10	»	13.00	8.XI	3	0.57	1.80	2.60	1.09	1.03
11	4	9.00	30.IX	1	0.90	1.11	0.91	0.93	—
12	»	9.00	8.X	1	0.85	1.09	0.87	0.89	0.89
13	»	9.100	17.XI	2	0.64	1.03	1.16	0.85	0.87
14	5	14.500	27.IX	1	0.78	1.21	0.94	0.88	0.81
15	»	13.500	1.X	2	0.69	1.07	1.05	1.10	0.70
16	»	10.900	9.XI	1	0.75	1.04	0.83	0.89	0.81
17	6	10.500	3.X	1	0.83	1.29	1.03	0.87	0.98
18	»	10.500	19.X	3	0.76	1.35	1.24	0.99	1.05
19	»	10.500	8.XI	3	0.68	1.14	1.20	0.93	1.13

TABELLA V.

Glicemia in conigli dopo iniezione di insulina estratta dall'orina dei cani operati e da quella di cani normali

Numero della esperimento	Matricola del cane	Peso del corpo in kg.	Condizione degli animali	Data	Glicemia %	cmc. di orina da cui fu estratta l'insulina	Intervallo di tempo fra l'ultimo pasto e il momento in cui fu raccolta l'orina	Matricola del coniglio	Peso del corpo in kg.	Grammi di glucosio in 1000 cmc. di sangue: prima dell'iniezione d'insulina	dopo l'iniezione 1 ora	dopo l'iniezione ore
1	2	8.500	Operato	21.X.1929	0.52	30	3 giorni	1	2.020	0.95	1.49	2.05
2	»	8.500	»	20.X. »	0.91	30	8 ore	2	2,020	1.05	1.24	1.17
3	»	8.900	»	14.XI. »	1.00	60	6 ore	3	2.020	0.93	0.84	0.90
4	3	17,00	»	18.X. »	0.71	30	2 giorni	2	2 000	0.91	1.81	1.95
5	»	17.00	»	25.X. »	1.07	60	8 ore	»	2.000	1.01	1 27	1.32
6	4	9.100	»	20 XI. »	0.55	60	3 giorni	3	1.900	1.11	2.21	1.66
7	»	9.100	»	30.XI. »	0.89	60	8 ore	»	1.900	0.99	1.30	1.22
8	5	10.300	»	2-XII. »	0.48	30	3 giorni	4	2.090	1.03	1.63	1.85
9	6	11.00	Normale	10.XII. »	0.45	30	3 giorni	»	2.090	1.07	1 80	2.15
10	7	17.00	»	8.XI. »	1.23	30	6 ore	2	2.100	0.91	0.73	0.59
11	»	17.00	»	17.XI. »	0.92	60	3 giorni	»	2.100	0.99	1.60	1.54
12	»	17.00	»	10.XII. »	1,00	60	8 ore	»	2.100	0.93	0.55	0.49
13	8	13.500	»	15.I.1930	0.89	60	3 giorni	3	1.940	0.90	1.41	1.72
14	»	13.500	»	27.II. »	1,16	60	6 ore	»	1.940	0.94	0.47	0.59

Ora questi dati morfologici da me osservati dopo la legatura in massa del pancreas, praticata secondo le norme precise del Mansfeld, certo non sono quelli che più incoraggino ad ammettere un'iperfunzione ormonica da parte dell'organo legato.

I risultati ottenuti dai varî autori in seguito alla legatura, come pure all'occlusione o alla recisione dei condotti escretori furono da essi diversamente interpretati. Opinione corrente era che l'intervento, in qualunque modo eseguito, portasse in modo più o meno completo ad atrofia il tessuto acinoso, con un processo di cirrosi diffusa, (Cl. Bernard, Sciff, Paulow, Arnozan e Vaillard, ecc.), mentre le isole si conservavano perfettamente e gli animali non presentavano glicosuria nè altri fenomeni diabetici (Vassale, Schultze, Ssobolew, Laguesse, Marrassini, Visentini, Lombroso, Tchassownikow). Taluni però, nelle stesse condizioni sperimentali, avevano trovato anche gli isolotti compromessi e fin scomparsi, (Minkowski, Mankowski, Pende, Lindsay e Peters) e alcuni avevano pure riscontrato glicosuria (Hédon, Sauerbeck, Tiberti, Visentini) o iperglicemia (Watermann).

Ora i dati contradditori sugli esiti di questa dissociazione fisiologica sperimentale delle due componenti della funzione del pancreas, sono in parte spiegati dalle disposizioni anatomiche diverse negli animali studiati (cavie, conigli, cani) e dalle risultanze delle ricerche di Hess e Sinn, relative alla persistenza di canali soprannumerarî, il cui deflusso non sia stato turbato, o più spesso alla ricanalizzazione o rigenerazione dei dotti legati o resecati (Ssobolew, Visentini).

Non dobbiamo però tacere che mentre il Laguesse, per citare il più noto, parlava della sopravvivenza di una vera ghiandola endocrina, già il Tiberti aveva prontamente fatto notare che, probabilmente furono interpretati come isole di Langerhans accumuli cellulari sperduti nel tessuto sclerotico. Del resto il Laguesse stesso ed il Gontier de la Roche, trovavano le isole mal conservate, in preda « à une vacuolisation exagerée » e in qualche cellula il nucleo messo in libertà per disintegrazione del protoplasma. E notavano qualche isolotto invaso da grosse cellule connettive, che organizzandosi in setti lo sepimentavano. Più tardi il numero totale delle isole cresceva fortemente, molte di esse erano costituite da sole due o tre cellule, tutte formate più a spese dei

tubuli escretori e delle isole antiche che dagli acini rigenerati. Laguesse e Gontier de la Roche ammettevano che questi isolotti fossero ben diversi da quelli normali, anzi, a volte, fossero costituiti da cellule piccole e alterate, « à caractères cytologiques un peu speciaux, à cytoplasme souvent vacuolaire », fatto che certo inquadra poco nel concetto di un processo rigenerativo; allo stesso modo che non si comprende proprio come cellule in preda a un processo di vacuolizzazione tanto intenso che i predetti autori definiscono addirittura esagerato, possano poi moltiplicarsi a dare isole più numerose e più grosse, quando essi pur dicono: « une seule foi nous avon cru voir une cariocinèse ». Per quanto riguarda i rapporti vicendevoli fra acini ed isole di Langerhans, volta a volta negati ed in varie modalità ammessi, il problema è già stato studiato nel campo morfologico e in quello funzionale.

Lo studio morfologico di pancreas normali non ha risolto il difficile problema. L'embriogenesi parla per un'origine comune dai dotti primitivi (isolotti primari). Questi, secondo alcuni, potrebbero rigenerare ancora isole per tutta la vita adulta; mentre secondo altri le isole stesse potrebbero formarsi solo dagli acini (isolotti secondari), e per altri infine nessuno dei due casi menzionati sarebbe assolutamente possibile. La presenza di una capsula connettivale, che divide nettamente le isole dal tessuto acinoso, è stata invocata a sostegno della individualità propria del tessuto insulare, ma per alcuni autori non si tratterebbe che del tessuto perilobulare, messo meglio in evidenza dalle strutture insulari stesse. La vascolarizzazione e l'innervazione parlerebbero invece più per l'indipendenza loro (Pensa). Alla presenza di cellule acinose in piena isola e viceversa (Koch) si è data spesso l'interpretazione di artifizi dovuti al taglio della sezione microscopica (Löwenfeld e Jaffé).

Nel campo sperimentale, nelle più svariate condizioni le isole sono state trovate aumentate per numero e per grandezza: nel digiuno, sotto l'azione della secretina, dell'atropina, adrenalina, florizina, per iniezioni di glucosio, nel letargo. Ma le discordanze e le opposte opinioni sono pure qui molte: così nel digiuno, se le isole sono ingrossate, la loro funzione è meno attiva; si osservano infatti iperglicemie provocate più alte e prolungate, fino a veri fenomeni diabeto-simili (Hofmeister,

Hoppe-Seyler, Staub). E Partos non trovò più insulina nelle orine di animali digiunanti, fatto che trova conferma in quanto io esporrò in seguito. D'altra parte Banting e Best dimostrarono che le isole restano inalterate dopo la legatura dei dotti escretori, tanto è vero che non solo gli animali non diventano diabetici, ma dai pancreas atrofici si può estrarre una maggiore quantità di insulina. Herxheimer più recentemente, estraendo da pancreas legati il quintuplo di insulina che dai cani normali, completava col reperto biologico le sue vedute morfologiche di una trasformazione degli acini in isole, confermata nel reperto microscopico di isole insolitamente grosse e numerose. Bierry, Ratery, Gournay e Kourilski in base all'osservazione che in pancreatectomie subtotali si ha spesso iperglicemia senza glicosuria, e in trapianti sottocutanei di frammenti di pancreas l'esame istologico dimostra solo pochissime isole, si domandano perfino se in queste isole è localizzata la funzione endocrina. A Banting e Best, Choay fa osservare di non esser riuscito a estrarre insulina da pancreas atrofici: dato negativo, che può anche contar poco contro quello positivo degli americani. Ma non si deve dimenticare che è stato possibile poi ottenerla da pancreas normali, inattivando la tripsina in ambiente acido per H Cl, talchè è lecito pensare che tutto possa dipendere in tali condizioni, dalla scomparsa del tessuto acinoso (Epstein, Legiardi, Laura, Choay, Rosenthal e Behrendt). Le ricerche più recenti sugli esiti della legatura dei dotti e del pancreas in massa non sono state più concordi. Ho già ricordato che accanto a dati positivi di Alpern e Leites, Alpern e Besuglow, Jorns, Herxheimer, vi sono quelli negativi di Wolgemuth e Seo, Wolgemuth e Mochizuki, Retterer, Caccuri, e, dopo i reperti istologici che ho più sopra riportato, i miei.

Quanto ai rapporti fra acini e isole se le ricerche morfologiche di Bierry e Mac Kolmann, non han mai illuminato molto sull'argomento, dobbiamo registrare in questi ultimi un dato nuovo. La scuola di Gley, cioè ha dimostrato, e Zunz e La Barre hanno ben avvalorato con il metodo d'anastomosi pancreatico giugulare, che secrezione esterna e interno sono strettamente legate fra di loro, talchè l'una attiva l'altra. Sono note le interessanti ricerche di Gley e Hazard, i quali eccitando la porzione esocrina coll'introduzione di H Cl diluito nel duodeno mediante

la sondina di Einhorn, notarono che la secrezione di succo pancreatico era accompagnata da ipoglicemia, espressione di iperinsulinismo provocato. Ora questi dati ci fanno supporre rapporti stretti, sebbene non ben chiari fin'oggi, fra acini e isole o almeno fra le due secrezioni esterna ed interna e ci spiegano perchè la legatura dei dotti o del pancreas in toto abolendo l'una, intacchi pure l'altra: fatto che potrebbe esser meglio illuminato se le dimostrazioni di dotti in rapporto con le isole (Weichselbaum, Otani, Stoerk, Natali, Lewaschew, Bensley) venisse definitivamente riconosciuto.

È da rammentare inoltre un'ipotesi, che merita qui attenzione e cioè quella di W. N. Boldyreff, che, direi, è la traduzione fisiologica delle idee espresse da Mankowski, sulla morfologia del pancreas. Boldyreff, afferma: « die äussere und innere Sekretion des Pankreas sind nicht zwei verschieden Funktionen dieser Druse, sondern die zweite ist eine Fortsetzung der erstere. Das Erscheinen von Pankreassaft in Darm, sowohl während vie ausserhalb der Verdauungsphase ist die äussere Sekretion des Pankreas, und die Resorption dieses Saftes aus dem Darm in das Blut, ist die innere Sekretion des Pankreas ». In appoggio a questa ipotesi starebbero alcune ricerche di E. W. Boldyreff il quale trovò che nel succo pancreatico è contenuto un fermento glicolitico che passa nel sangue. Di fronte ai risultati molto spesso contraddittori ottenuti dai varî autori nello studio dei rapporti fra secrezione interna e secrezione esterna, sia nel campo morfologico sia in quello sperimentale, si può ormai tentare di spiegare e di interpretare i risultati da me ottenuti nei miei esperimenti. Prendendo in considerazione anzitutto i reperti istologici, non si riesce a comprendere perchè dopo la legatura del pancreas il connettivo che invade e stringe sempre più gli acini si arresti completamente davanti alle isole. Pare invece più probabile che « un processo atrofico e sclerosante, quale è questo che si svolge in vario tempo nel parenchima acinoso e nel suo stroma di sostegno per l'impedito deflusso del succo pancreatico, debba necessariamente ripercuotersi e propagarsi in parte su un certo numero di isole, così strettamente e intimamente collegate con gli acini » (Pepere). Ma se si considera l'opinione di quegli autori che sostengono che queste isole parrebbero più numerose e grandi proprio quando la fibrosi peri-

ed intracinosa è più accentuata, si sarebbe indotti ad ammettere in esse una resistenza particolare: se non fosse che Carnot e Amet in ricerche cliniche e sperimentali, Ottolenghi in innesti e Cevidalli e Leoncini in pezzi d'autopsia, ritengono ch'esse soffrano d'una grande labilità. Del resto io pure ho ricordato nei miei protocolli che nelle zone escluse, ma prossimiori alla legatura massiva, le isole sembrano quelle che prima e maggiormente risentono delle nuove condizioni. E non credo che ciò sia imputabile a disturbi di circolo, poichè anche dopo mesi dall'intervento, quando del pancreas non rimane che un cordoncino fibroso, in esso i corpi di Pacini o i ganglietti nervosi sono perfettamente integri (Fig. 5) e poichè risultati analoghi si hanno con la legatura dei dotti, in seguito alla quale la nutrizione del viscere non è certo disturbata. Ed allora, come conclusione delle ricerche istologiche, credo che si possa dire: che alla scomparsa degli acini s'accompagna l'atrofia insulare. A conferma di ciò sta il fatto che è possibile osservare in modo indubbio isole solo là dove pure il tessuto esocrino non ha sofferto o solo in minimo grado (parziale ricanalizzazione? dotti sopranumerari?).

La riduzione del tessuto attivo, riscontrata istologicamente, fa già sospettare una deficienza tanto della secrezione esterna, quanto di quella interna. I risultati delle ricerche chimiche poi la dimostrano in modo evidente. Le prove dirette a stabilire l'insorgere di un iperinsulismo sperimentale negli animali operati sono, secondo Mansfeld, due: quella del comportamento delle curve glicemiche dopo introduzione di glucosio e quella della glicemia dopo 2-3 giorni di digiuno completo; a queste si può aggiungere quella della glicemia a 24 ore dopo l'ultimo pasto. I risultati di tutti questi esami differirebbero dopo l'intervento, da quelli preoperatori, per una caduta della glicemia dopo un digiuno di 24 ore, assai più spiccata dopo 2-3 giorni (ipoglicemia da carenza) e per un acme più basso dell'iperglicemia dopo introduzione di glucosio; « Also nicht eine prozentuelle Abnahme der Hyperglykämie charakterisiert diese Versuche, sondern ein niereger Gipfel bei meist niedrigerem Nüchternwert ».

Farò rilevare subito che i due dati non sono sempre concordi nè costanti, ma se la ipoglicemia da carenza è indice dell'iperinsulismo provocato, per contro le curve glicemiche non forniscono segni altret-

tanto probativi. ed a questi fatti si deve attribuire in gran parte il dissenso notato fra i vari autori, in quanto chi si è basato sulla ipoglicemia dopo 24 ore di digiuno (Alpern e Leites, Herxeimer e Carpentier, Nather, Priesel e Wagner, Brancati, Maugeri, de Takàts e collaboratori), la trova più o meno manifesta con ampie oscillazioni: chi invece ha seguito la ipoglicemia dopo 2-3 giorni di digiuno, la riscontra netta e costante (Mansfeld, Sussi, Jorns); ad eccezione di de Takàts e collaboratori, pei quali essa sarebbe pure transitoria; coloro infine che hanno rivolto la propria attenzione in modo esclusivo alla iperglicemia provocata, non riscontrano il presunto « fenomeno di Mansfeld » che accidentalmente ed in via transitoria, a seconda che essi hanno considerato come fenomeno di Mansfeld l'ipoglicemia iniziale o quella postiperglicemica.

Difatti, mentre il Mansfeld non fà nemmeno cenno nei suoi lavori di questa ipoglicemia iniziale che pure figura nei protocolli (Cane N. 4, esp. 3°, tabella I) essa è cercata con diligenza dal Caccuri, che la può riscontrare una sol volta nel cane N. 2 a 50 giorni dall'intervento; altri autori parlano invece piuttosto di reazioni postiperglicemiche assai spiccate (Mansfeld, Jorns, Nather, Priesel e Wagner, Alpern e Besuglow); altri infine riferiscono di aumenti della glicemia meno accentuati che prima dell'operazione (Monsfeld, Jorns). De Takàts e collaboratori, servendosi per l'esame della funzione insulare della prova di Staub, Traugott, Lennox, affermano ch'essa dà risultati nettamente positivi, dopo la legatura parziale, massiva, del pancreas.

Ora alcuni fatti si verificano indiscutibilmente, e su ogni altro la ipoglicemia dopo 2-3 giorni di digiuno; ma a me pare che sulla scorta dei dati morfologici testè descritti nei pancreas legati, si debba a quei fatti dare una interpretazione che più si accordi col reperto istologico. Non penso certo che si possa o si debba parlare di un ipotiroidismo (Janney e Isaacson, Nather, Priesel e Wagner, Sinegubko), non confermato per altro dal Mansfeld, nè di un iposurrenalismo: ipotesi entrambe del resto emesse in base ad indagini istologiche, che non sempre, almeno per i gradi lievi, illuminano circa le modificazioni delle attività funzionali. Nè credo ammissibile la tesi di una miglior utilizzazione dell'insulina, come Caccuri sostiene, per i rapporti riscontrati fra zucche-

ro libero e combinato, tanto più che l'esistenza di queste due frazioni è molto scossa dalle ricerche recenti di Quagliariello ed è anche molto discussa dai tedeschi e dai francesi che l'avevan in un primo tempo accettata e difesa. Del resto il fatto riscontrato da Caccuri, che nel pancreas legato si trovano isole a nuclei picnotici e cellule alterate e che, dopo l'operazione, aumentano i corpi chetonici nel sangue e nelle urine, non s'accorda certo coll'aumento di insulina sostenuto dall'autore. D'altra parte io non posso confermare che le isole permangano integre o siano iperplastiche, rigenerate sulla scomparsa progressiva del tessuto acinoso, chè anzi ne seguono le vicende, e quindi non posso approvare il concetto che alla ipoglicemia corrisponda un iperinsulinismo e alla soppressione della funzione esocrina un incremento di quella endocrina (Jorns, Herxheimer e Carpentier, Mansfeld, Alpern e Besuglow, de Takàts, Wilder e collaboratori, Caccuri, Brancati, Sussi, Maugeri, Dengel). Sono perciò costretto a spiegare per altra via, in perfetto accordo con i reperti istologici, le conseguenze funzionali della legatura massiva parziale del pancreas.

Prendiamo in considerazione il dato principale e di maggior fiducia (Mansfeld): l'ipoglicemia da carenza o meglio da digiuno di 24 ore. Ora nei cani da me operati, la glicemia, contrariamente a quanto si verifica di solito negli animali normali, presentava oscillazioni giornaliere molto ampie, prodotte dalla assunzione degli alimenti. Cioè essa, mentre 8-12 ore dopo i pasti era ancora allo stesso livello riscontrato prima dell'operazione o financo lo superava, pur senza determinare mai glicosuria, a 24 ore dopo l'ultimo pasto ne scendeva più o meno al disotto. La regolarità progressiva di questa caduta mi portò allora a pensare che fra essa e la ipoglicemia da carenza non esistesse quell'antagonismo che il Mansfeld ammette, ma che detto fenomeno fosse la prosecuzione e l'accentuazione dell'altro. Ora poichè il dato anatomico mi conduceva ad ammettere una ipofunzione pancreatica e, per conseguenza, una deficienza insulinica, ho cercato fra i fatti notoriamente ad essa imputati, quelli che meglio me ne potevan dare ragione.

Si ammette oggi che l'azione dell'insulina sia duplice, cioè « si manifesti con un aumento della combustione dei carboidrati e anche.

quando nell'organismo trovasi una sufficiente quantità di glucosio, con un aumento delle riserve di glicogeno » (Quagliariello). Così Cori e collaboratori, Collazo, Händel e Rubino, Bickel e Collazo, Carrasco Formiguera, somministrando insulina insieme a glucosio, hanno osservato, quattro ore dopo l'iniezione di insulina, aumentare il glicogeno nel fegato e nei muscoli. Bindi, come prima Lépine, Martz, De Meyer, Issekutz, ha di recente trovato che il fegato di cane perfuso separatamente nei due lobi, innestando due cannule nei due rami della vena porta, con soluzione di glucosio nell'uno e, con la stessa addizionata ad insulina, nell'altro, trattiene, in quest'ultimo caso, una maggior quantità di glucosio, cui corrisponde un aumento di glicogeno. Issekutz pure, trattando per qualche giorno la rana con insulina ha visto che questa polimerizza nel proprio fegato una quantità di glucosio maggiore che non le rane di controllo. Cori C. F. e Cori G. T. sostengono poi, in base al reperto di una quantità di glucosio minore nelle vene sovraepatiche che non nella cava o nella femorale, in seguito ad iniezione d'insulina, ma senza alcuna somministrazione di zucchero; che tale ormone agisca principalmente inibendo la glicogenolisi. E sono ancora da ricordare qui le ricerche di Aron; il quale notò che nell'embrione i primi segni della glicogenesi epatica compaiono insieme con l'inizio della funzione insulare, (éxplosion endocrinienne).

Ora, nei cani da me operati, dopo 2 giorni di digiuno il glicogeno nel fegato era assente. In due cani normali di controllo dopo 2-3 giorni di digiuno la quantità di glicogeno contenuta nel fegato era rispettivamente del 6,7% e del 9% ed in un cane operato (il 6°), già 4 ore dopo un pasto abbondante, ricco di carboidrati tale quantità era scesa al 5,4%. Si può perciò affermare che la legatura in massa del pancreas provoca una diminuzione della glicogenesi nel fegato ed una accentuazione della glicogenolisi, per cui i depositi di glicogeno si esauriscono presto e l'animale presenta assai per tempo ipoglicemia dopo il digiuno.

Credo che tale spiegazione lasci più soddisfatti dell'iperinsulinismo invocato dal Mansfeld. Per questo autore la glicemia nei cani operati, dopo un digiuno di 2-3 giorni s'abbassa come nei cani normali tenuti in identiche condizioni, ma trattati con iniezioni di insulina. Io invece devo escludere che si tratti di iperinsulinismo anche in base

all'esame di alcune curve glicemiche. Infatti se l'ipoglicemia da carenza fosse espressione di iperinsulinemia, si dovrebbero constatare dopo introduzione di glucosio, i segni di questa condizione e cioè iperglicemia debole, seguita da ipoglicemia più spiccata (Depisch e Hasenhörl, Rubino e Varela). Ma un esame, anche sommario, delle curve in piena ipoglicemia da carenza, dimostra che, se pure talvolta la glicemia aumenta più lentamente (Tab. IV; esp. 13, 15) essa raggiunge valori più alti, (Tab. IV; esp. 4, 10) rimanendo al disopra della norma per un tempo più lungo che non prima della legatura. Si hanno dunque curve analoghe a quelle osservate in casi di diabete attenuato, tipo Sandmeyer, o nel digiuno. Lo stesso fatto si può rilevare anche dalle grafiche del Mansfeld, (cane 7°, curva 5, a 5 e 9 mesi dall'operazione).

Contro l'opinione di un eccesso di insulina in circolo stanno le ricerche di Partos, e le mie, le quali mostrano come nel digiuno non sia più possibile isolare dalle prime una sostanza avente tutte le proprietà dell'insulina. Questa, è noto, fu già segnalata nelle urine di uomini sani per la prima volta da Best e Scott, e poi in quella di donne gravide, di diabetici, ecc. Io ho ricercata esclusivamente la sostanza in questione nell'urina e non nel sangue, perchè, giusta le indagini di Partos, Best e Scott, essa sarebbe da identificarsi, sia per le proprietà fisiologiche, sia per quelle fisiche, o fisico-chimiche alla insulina vera, mentre la sostanza ipoglicemizzante isolata da Massa e Maugeri dal sangue, parrebbe diversificarne alquanto e avvicinarsi più, specie per quanto riguarda l' azione tardiva e prolungata, l' inefficacia di somministrazione di zucchero alle sostanze ipoglicemizzanti contenute in vegetali (le glicochinine di Collip). La sua presenza in circolo in ipoglicemie da cause diverse (iniezione di insulina, di glicochinine, coccidiosi epatica, epatectomia) farebbe pensare inoltre ad un prodotto aspecifico. Ora, in base ai dati raccolti nella tabella V, si può affermare che nell'urina del cane può esistere una sostanza ipoglicemizzante, identificabile coll'insulina (Partos). Essa si può estrarre dall'urina di cani normali ben nutriti (Tab. V, esp.ti 10, 12, 14), manca invece in quella degli stessi animali digiuni da 2-3 giorni (Tab. V, esp.ti 11, 13) ed in quest'ultimo caso l'estratto dell'urina, iniettato nel coniglio, da iperglicemia per la creatinina che contiene. E' talvolta appena dimostrabi-

le in traccie nell'urina dei cani operati di legatura in massa del pancreas, dove da 30 cmc. di solito se ne estrae solo tanto da controbilanciare la *elevazione* glicemica cagionata nel coniglio dalla creatinina (Tab. V, esp.to 2), e da 60 cmc. una quantità sufficiente, in singoli casi, a determinare nel coniglio una lieve ipoglicemia (Tab. V, esperimento 3); in questi animali è pure assolutamente assente dopo 2-3 giorni di digiuno. L'ipoglicemia determinata dall'estratto, sembra fino a un certo punto, proporzionale alla quantità di urina dalla quale essa proviene.

L'assenza di insulina nelle urine dei cani digiuni, spiega la iperglicemia spesso alta e sempre prolungata osservata in tali animali. L'accentuarsi di tale fenomeno nei cani operati, (Tab. IV, esp.ti 4, 10) dimostrerebbe una formazione di insulina minore della norma. Questo fatto sarebbe convalidato dalla assenza o dalla minore ipoglicemia prodotta nei conigli dall'estratto dell'urina di cani operati, in confronto con quello dei normali.

Per quanto riguarda poi il minore aumento della glicemia dopo introduzione di glucosio, che è il fenomeno più frequente ad osservarsi nei cani operati, io penso che esso dipenda dalla povertà in glicogeno di questi animali, per cui il fegato fissa in copia, prontamente, il glucosio che gli arriva dall'intestino, nella misura consentitagli dall'attività pancreatica.

E' questa un'ipotesi formulata in base alle idee di Cl. Bernard. oggi da alcuni molto combattute .Infatti in questi ultimi anni alcuni autori hanno voluto modificare alquanto le vedute correnti sul meccanismo dell'iperglicemia da glucosio: assai complicato, in cui non solo entrerebbe in giuoco un'azione centrale e periferica, esplicata dal glucosio stesso. ma anche con tutta probabilità, un riflesso dalla mucosa duodenale sul fegato (Staub, Traugott, Pollak, Depisch e Hasenhoerl, Eisner e Forster). Si ammetteva e da molti ancora si ammette che, dopo introduzione di glucosio, una parte passi nella circolazione generale determinando iperglicemia e se esuberante, anche glicosuria. Ma oggi due altre teorie si contendono il campo. Secondo una di queste (teoria del riassorbimento) il fegato lascierebbe passare nella circolazione generale il glucosio assorbito dall'intestino (Pollak, Gigon. Cori): l'iperglicemia così

provocata, produrrebbe poi una scarica di insulina dal sistema Langerhansiano, eccitato direttamente (Staub), o coll'intermediario del sistema nervoso (vago destro di La Barre). Secondo l'altra teoria (teoria dello stimolo) l'iperglicemia non sarebbe prodotta dal glucosio assorbito ma da una glicogenolisi attiva del fegato (Eisner e Forster, Rubino a Varela, Umber, Rosenberg, Hetèny e Pogany. Ma i fatti sui quali le due teorie si basano non sono scevri da critiche. La precocissima comparsa dell'iperglicemia alimentare sulla quale si fonda la teoria dello stimolo (Condorelli, Gigon), potrebbe infatti dipendere da impreparazione del fegato (Sakaguchi, Staub), o da una conseguenza iniziale dell'insulinemia provocata (diabete da insulina di Buerger).

Così pure la mancanza di proporzionalità tra quantità di carboidrati somministrati e l'altezza dell'iperglicemia invocata dai sostenitori della stessa teoria, potrebbe trovar la sua spiegazione nei risultati delle ricerche del Moschini, Bouckaert, ecc. di cui dirò appresso. Del resto le ricerche di Wachsmuth e Loeweneck sull'iperglicemia alimentare in cani con fistole di Eck, di Caccuri, di Moschini in animali intossicati con fosforo, di Albertoni in cani e uomini con minorata funzione epatica per avvelenamento da alcool, dimostrano concordemente che rimanendo costante la quantità di glucosio introdotta, si produce in quelle contingenze sperimentali un'iperglicemia molto più elevata e prolungata.

L'Albertoni, in particolare è difensore della funzione regolatrice del fegato in riguardo al glucosio, che vi giunge dalla vena porta. Il fegato, a suo dire, regola la distribuzione e l'uso del glucosio, che proviene dal circolo portale, e funziona veramente secondo la formula Galenica da grande magazzino di ben amministrata città. Anche recentemente in ricerche sulle sedi di trasformazione dei carboidrati nell'organismo animale Albertoni osserva che in conigli digiuni da 24 ore, quantità non trascurabili di glucosio (20 gr.) vengono intieramente trattenute dal fegato e non passano in circolo.

In queste ricerche dell'Albertoni trovano la loro spiegazione i miei reperti sperimentali, come del resto la trovano anche le più forti iperglicemie provocate (Wachsmuth e Loeweneck, Caccuri, Moschini, Albertoni), le forti o mortali cadute della glicemia quando il fegato è degenerato (Caccuri, Frank e Isaac, Bodansky), o asportato (Mann e Ma-

gath). Infine anche il fatto da me osservato, in accordo con quanto hanno trovato Alpern e Leites, De Takàts, che negli animali a pancreas legato l'iniezione sottocutanea di adrenalina non determina più iperglicemia, è spiegato chiaramente dalla mancanza di glicogeno nel fegato. Del resto lo stesso risultato ottenne Caccuri in animali il cui fegato era in preda a degenerazione grassa per avvelenamento da fosforo.

Restano da chiarire piccole particolarità, che si incontrano saltuariamente nelle curve glicemiche dei cani operati, e che io credo trovino la loro spiegazione nei fatti stessi da me già descritti. Non mi fermerò su quello che erroneamente va col nome di fenomeno di Mansfeld e che a mio modo di vedere, è un reperto accidentale in risposta a condizioni varie, difficili a precisare. Una ipoglicemia iniziale dopo introduzione di glucosio è stata da me osservata una volta in un cane castrato (ipofunzione insulare?). Occasionalmente è stata riscontrata pure dal Mansfeld, che ne fa particolare cenno, da Caccuri, da Bierry, Rathery e Kourilsky, Targowla e Santenoise in individui affetti da malattie nervose, da Condorelli e Rapinesi in epatopazienti e ne vediamo un esempio anche nelle grafiche di Bufano in due individui affetti da parotite epidemica. In questi due ultimi casi qualora si pensi che il pancreas fosse cointeressato, lo sarebbe stato certamente nel senso di una ipofunzione; per cui è difficile ammettere la spiegazione che si dà di solito di quello chiamato erroneamente fenomeno di Mansfeld, secondo la quale questo sarebbe dovuto ad aumento dell'insulina precoce ed intenso (Condorelli, Zagari). Nè credo si possa dar molto peso al fatto osservato dal Mansfeld, che l'iperglicemia cresce solo di poco, aumentando la quantità di glucosio introdotta, in quanto che da ricerche in corso di Moschini, compiute nell'Istituto di Fisiologia di Pavia e da altre del Bouckaert e collaboratori, risulterebbe chiaro come non vi sia parallelismo stretto fra la quantità di glucosio somministrato e quella di insulina che occorre iniettare per mantenere invariata la glicemia.

Conclusioni

1. — La legatura in massa di una parte del pancreas, praticata nel cane in modo da isolare una porzione dell'organo dal duodeno, conservando però le sue connessioni vascolari, così che nell'intestino non si

versi più il succo pancreatico della porzione legata, è un intervento ben sopportato dall'animale, se è limitato: risentito se è esteso.

2. — Tale operazione provoca, in progresso di tempo, atrofia del tessuto acinoso, con sclerosi sempre più accentuata del tratto legato. fino a che questo si riduce ad un cordoncino di connettivo stivato in cui però sono ancora conservati i gangli nervosi e i corpi di Pacini (gatto), testimoni di persistente vascolarizzazione. La componente insulare del pancreas non mostra una particolare resistenza, ma segue le sorti di quella esocrina, la quale, talora, ha nella sua involuzione aspetti morfologici che la fanno scambiare con la prima.

3. — Nell'animale operato la glicemia, già dopo 24 ore di digiuno, è più bassa che nell'animale normale; dopo 2-3 giorni di digiuno scende in grado ancora maggiore. In seguito ad introduzione di gr. 1,75 di glucosio per kg. del peso del corpo, l'iperglicemia di solito è meno accentuata, se l'introduzione è fatta non più tardi di 24 ore di digiuno; ma, pur essendo spesso meno alta, dura più a lungo, se l'introduzione è fatta dopo 2-3 giorni di digiuno. Il glicogeno epatico diminuisce fortemente già 4 ore dopo l'ultimo pasto e manca dopo 2-3 giorni di digiuno. L'insulina eliminata per i reni si trova solo in tracce nell'orina raccolta 6-12 ore dopo l'ultimo pasto: ne scompare completamente dopo 2-3 giorni di digiuno.

4. — I caratteri delle deiezioni degli animali operati, la perdita in peso di essi se adulti, la stazionarietà dei giovani, sono indici di una insufficienza funzionale della porzione esocrina della parte di pancreas legata.

5. — Il comportamento più sopra descritto della glicemia a digiuno, quello dopo introduzione di glucosio, la diminuzione fino alla scomparsa del glicogeno epatico, la minore eliminazione di insulina coll'orina dimostrano un'insufficienza funzionale della componente endocrina della parte di pancreas legata; perciò la glicogenesi è meno attiva e la glicogenolisi è aumentata.

6. — L'azione favorevole della legatura in massa di una parte del pancreas proposta da alcuni autori come cura chirurgica del diabete appare, alla luce dei risultati sperimentali del presente lavoro, destituita di fondamento.

BIBLIOGRAFIA

ABRUZZESE G., Sull'ipertrofia compensatoria delle isole di Langerhans da parziale ablazione del pancreas. *Pathologica*, XVIII, 121, 1926. — ADLER, Physiologie des Ovarium. *Handb. Innere Sekret.* II, 917. — ALBERTONI P., Lo zucchero del sangue e la funzione protettiva del fegato. *Il Policlinico. Sez. Med.*, 1922. — LO STESSO, Alcool e funzione protettiva del fegato. R. Accad. Scienze. Bologna, 1926. — LO STESSO, Sulle sedi di trasformazione degli idrati di carbonio nell'organismo animale. R. Accad. Scienze. Bologna, 1928. - ALESSANDRI, Innesti di tessuti viventi adulti ed embrionali in alcuni organi del corpo. *Policl. Chir.*, p. 253, 1896; p. 289, 1897. — ALLEN F. M., Experimental studies in diabetes. I. The internal pancreatic function in relation to body mass and metabolism. Alterations of carbohydrate assimilation by removal of portions of the pancreas. *Amer. J. of med. Sc.*, CLXI, 16, 1921. — LO STESSO, The influence of the thyroïd upon diabetes. *Journ. of metabolic Research.*, I, 619, 1922. — ALPERN D. u. LEITES S., Ueber den Einfluss der Unterbindung des Ductus pancreaticus auf den Blutzucker. *Klin. Woschr.*, S. 1551, 1925. — ALPERN D. u. BESUGLOW W. P., Beobachtungen über die Hyperfunktion des Inselapparates des Bauchspeicheldrüse. *Klin. Woschr.*, S. 586, 1928. — ANGYAN J., Ueber operative Behandlung des Diabetes. *Budapest Orvosi Ujsàg.*, N. 49, 1929. — ARON M., Corrélation fonctionelle entre la glande thyroïde et le pancréas endocrin chez les larves d'amphibiens. *C. r. S. B.*, n. 21, 215, 1928. — BANTING F. G. a BEST C. H., The internal secretion of the pancreas. *J. lab. Cl. med.*, VII, 251, 1922. — BEST C. H. a. SCOTT D. A., Insulin in tissues other than pancreas. *Prel. comm. J. Amer. Med. Ass.*, LXXXI, N. 5, 1923. — BEST C H., SMITH G., SCOTT D. A., An insulin like material invarious tissues of the normal and diabetic animal. *Amer. J. of Phys.*, LXVIII, 161, 1924. — BICKEL A. u. COLLAZO J. A., Ueber den Mechanismus der Insulin Wirkung. (Beobachtungen an der Kohlenhydratstoffwechselsstörung bei Avitaminose). *Deut. Woschr.*, N. 45, 1923. — BIERRY H. et KOLMANN M., La fonction endocrine du pancréas est elle localisée uniquement dans les îlots de Langerhans? GLI STESSI, Les îlots de Langerhans font-ils retour aux acini? *Soc. de Biol.*, XCIX, 459 e 17, 1928. — BINDI N., L'influenza dell'insulina sul glicogeno epatico. *Arch. di Fis.*, XXIII, 99, 1925. — BLOTTNER H. a. MURPHY W. P., The effect of liver on the blood sugar level. *Journ. Amer. Med. Ass.*, XCII, 1332, 1929. — BODANSKY A., Insulin hypoglycemia in normal sheep and antagonistic effects of thyroxin and insulin. XI *Congr. int. de Phys.* (*Edimbourg*). 1923. — BODANSY M., The produktion of hypoglicemia im experimental derangements of the liver. *Amer. Journ. of Phys.*, LXVI, 775, 1923. — BOEGGILD D., Influence des glandes surrènales sur l'hyperglycèmie diabètique. *C. r. Soc. Biol.*, IIXC, 816, 1923. — BOLDYREFF W. N., Die periodische Tätigkeit des Organismus und ihre physiologische Bedeutung. *Erg. Phys.*, Bd. XXIX, 485, 1929. — BOUCKAERT J. P., DE MEYER P., KREKELS R. C., Equilibre glucose-insuline. *Arch. inter. Phys.*, T. XXXI, 180, 1929. — BRANCATI R., Innesti sperimentali di pancreas. Contributo ai tentativi di trattamento chirurgico del diabete pancreatico. *Atti Soc. It. Chir.*, 1928. — BUFANO, L'influenza dell'ergotamina sulla glicemia negli animali e nell'uomo sano. *Rif. Med.*, pag. 891, 1927. — LO STESSO, La tolleranza per i carboidrati nella parotite epidemica. *Endocr. e Patol. Costituz.*, II, 253, 1927. — BÜRGER, Uber die physiologische und klinische Bedeutung der primären Insulin-hyperglykämie. *Verhdl. Deut. ges. inn. Med.*, 508, 1929. — BURN J. H., The relation of pituitary exstract (infundibular lobe) to the fall of blood sugar produced by insulin. *Journ. of Phys.* (Proc.), XXXVIII, 57, 1923. — BURN J. H. a. MARKS H. P., On the relation of thyroïdectomy to the effect of insulin on the blood sugar of rabbits. *Journ. of Phys.*, VIII, 59, 1924. — CACCURI S., Variazioni del tasso glicemico e dei corpi chetonici in seguito alla legatura in massa del pancreas. *Minerva Med.*, N. 17, 1928. LO STESSO, Glicemia e avvelenamento da fosforo. *Folia Medica*, N. 13, 1929. — LO STESSO, *Arch. di Pat. e Clin. Med.*, VIII, 1, 1929. — CARNOT et AMET, De la dégénérescence des îlots de Langerhans en dehors du diabète. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, LIX, 1905.

— Gli stessi, Sur le mécanism d'action de l'insuline. *Soc. de Biol.*, XCII, 813, 1925. — Carrasco Formiguera, Insulin. Estudio fisiologico y clinico. II Ed. — Cesa-Bianchi, Glicoregolazione e secrezioni interne. *Rass. Clinico-Scientif.*, pag. 353, 1928. — Cevidalli e Leoncini, Ricerche sulle alterazioni cadaveriche del pancreas. *Lo Sperimentale*, pag. 565, 1907. — Choay, La sécrétion interne du pancréas et et l'insuline. *Masson. Paris* 1926. — Ciminata A., Guarigione del diabete sperimentale, con l'enervazione operatoria delle glandule surrenali. *Arch. Pat. e Clin. Med.*, VIII, 1, 1929. — Collazo J. A., Händel M., Rubino P., Ueber den Wirchungsmechanismus des Insulins. *Kl. Woschr.*, N. 45, 1923. — Gli stessi, Experimentelle Beiträge zur Insulinfrage. *Deutsch. Med. Wosch.*, S. 747, 1924. — Condorelli L., La glicemia alimentare. Fisiopatologia e valore clinico. *Il Policlinico. Sez. Med.*, Fasc. 5, 1926. — Cori C. F. a. Cori G. T., The influence of insulin and epinephrine on glycogen formation in the liver. *J. Biol. Chem.*, LXXXV, 175, 1930. — Cori C., Cori G. a. Goltz J., Comparative study of the blood sugar concentration in the liver vein, the leg artery and the leg vein during insulin action. *J. Pharmac. exp. Ther.*, XXII, 354, 1924. — Cori G. F., Cori G. T. a. Pucher G. W., The free sugar content of the liver and its relation to glycogenosynthesis and glycogenolysis. *J. of Pharmak a. exp. Ther.*, XXI, 377, 1923.

Demel u. Krammer, Lässt sich die inneren Sekretion des Bauchspeicheldrüse auf operativen Wege beeinflussen? *Mitt. grenzgeb. d. med. u. chir.*, XLI, 582, 1929. — Depisch E. u. Hasenorl R., Ueber die alimentäre Hypoglykämie als Funktionsprüfung des Inselorgan. *Wien. Biol. Ges.*, 21 Febbr. 1927. — Gli stessi, Beitrag zur Blutzuckerregulation. *Klin Woschr.*, S. 2011, 1926 e N. 18, 1927. — Depisch E., Hasenhorl R. u. Schonbauer L., Ueber die operative Beeinflussung des Zuckerstoffwechsels. *Wien. Kl. Wosch.*, N. 11, 1930. — De Takats, Geza. — Correlations of the external and internal pancreatic secretion. I The histologic changes in the isolated tail of the pancreas. *Arch. Surg.*, XIX, 775, 1929. — De Takats, Geza, Frances Hennett, Dorothy Henderson a. Seitz I. J., The effect of isolation of the tail of the pancreas on carbohydrate metabolism. *Arch. Surg.*, XX, 866, 1930. — Dodds E. a. Dickens F., Some observation on the properties an preparation of insulin, with special reference to the picrate-acetone method of preparation. *Brith. J. of exp. Path.*, II, 115, 1924. — Donati M., Tentativo di trattamento chirurgico del diabete con la enervazione di una capsula surrenale. *Arch. Ital. di Chir.*, XXIV, 1, 1929. — Ducheneau L., Action de l'insuline sur les lapins éthyroïdès. *C. r. Soc. Biol.*, XC, 248, 1924. — Epstein, Rosenthal, Maechling, a. De Beck, Studies on the relation of the external to the internal secretion of the pancreas. Biochemical study on the nature of the action of trypsin on insulin. *Amer J. of Phys.*, LXX, 225, 1924. — Eisner u. Forster, Zur alimentäre Hyperglykämie und Glykosurie. *Berl. Klin. Wochschr.*, S. 839, 1921. — Fichera, Impianti omoplastici feto-umani nel cancro e nel diabete. *Tumori*, p. 434, 1928. — Fisher N. F. a. Noble B. E., Excretion of insulin by the kydneys. *Amer. J. of Phs.*, LXVII, 72, 1923. — Folin O. a. Wu H., A modified and improved method for determination of sugar. *J. of Biol. Chem.*, XLI, 367, 1920. — Franco, Contributo allo studio dei fattori neuroormonici del diabete mellito. (L'ergotamina, l'atropina, la pilocarpina e gli ormoni sessuali nel dominio delle sindromi neuroormoniche glicemiche). *Folia Med.*, pag. 139, 1929. — Frank E. u. Isaac S., Beiträge zur Theorie experimenteller Diabetesformen (im Anschluss an Untersuchungen mit Hilfe der Phosphorvergiftung). *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.*, Bd. LXIV, 274, 1911. Friedmann G. A. a. Gottesmann J., Studies on the relation of the thyroïd to pancreatic diabetes in dogs. *Arch. of int. Med.*, LXXIX, 1228, 1922. — Gahler, Ladurner, Unterrichter, Das Verhalten des Blutzuckerwerts nach Pankreasunterbindung. *Pflüger's Arch.*, CCXVIII, 477, 1927. — Gayet et Guillaumie, La regulation de la glycémie des chiens diabétiques par des quantités variées de tissu pancreatique transplante. *C. r. Soc. de Biol.*, N. 9, 584, 1928. — Gigon A., Die Kohlehydrate des Blutes und ihre Verarbeitung im Organismus. *Erg. der Phys.*, XXIV, 196, 1925. — Gigon A., Zur Kenntnis des Kohlenhydratstoffwechsels und der Insulinwirkung. *Zeitschr. f. Klin. Med.*, CI, 17, 1925. — Gley E., Hazard R., Excitation simultanée de la Sécrétion extene et de la secretion interne du pancreas. *C. r. Soc. de Biol.*, T. 99, 16, 1928. — Gley E., Hazard R., Excitation des sécrétion externe et interne du pancréas par le même excitant après surrénalectomie. *C. r. Soc. de Biol.*,

T. 99, 195, 1928. — Gley E., Des relations entre les diverses activités des glandes plurifunctionnelles. *Biol. Méd.*, XIX, 155, 1929. — Goljanitzki, Zur Frage des Ersatzes der endokrinen Drüsen. *Arch. f. Klin. Chir.*, CXXX, 763, 1924. — Goljanitzki u. Smirnowa, Weitere Erfahrungen mit der chirurgischen Behandlung des Diabetes. *Zeitschr. f. Klin. Med.*, Bd. 105, 661, 1927. — Grevenstuk A. u. Laqueur E., Insulin. *Erg. der Phys.*, XXIII, 1, 1925. — Hansemann, Ueber die Struktur und den Wert des Gefäassinsel des Pankreas, *Verhand. detsch. Path. Geselsch. in Hamburg*, 1902. — Hédon E. et Giraud G., Relation entre le pancréas et les capsules surrénales au point de vue du diabète. *C. r. S. B.*, LXXXIII, 1310, 1920. — Herxheimer G., Pankreaszellinseln u. Insulin nach Unterbindung der Ausführungsgänge der Bauchspeicheldrüse. *Kl. Wosch.*, S. 2299, 1926. — Herxheimer G. u. Carpentier E., Ueber das Verhalten der Langerhans'schen Zellinseln des Pankreas und die Insulinbildung nach Gangunterbindung. *Ziegler's Zeitr.*, LXXVI, 270, 1927. — Hess O., Die Ausfühungsgänge des Hunde Pankreas. *Vorl. Mitt. Pflügers Arch.*, CXVIII, Hift. 8-10, 1907. — Hetény S. u. Pogany J., Uber den Mechanismus der alimentären Hyperglykämie. *Kl. Woschr.*, VII, 407, 1928. — Heymans C. et J. F., Sur la disparition de l'insuline du milieu sanguin après l'injection intraveineuse. *C. r. S. de Biol.*, XCVI, 719, 1927. — Hofmeister F., Ueber den Hungerdiabetes. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, XXVI, 355, 1886. — Hoppe-Seyler G., Glycosurie der vagantes. *Münch. Med. Woschr.*, S. 531, 1900. — Houssay B. A. et Busso R. R., Sensibilité des animaux éthyroïdès vis-à-vis de l'insuline. *C. r. Soc. Biol.*, XCI, 1037, 1924. — Houssay B. A. et Lewis J. T., Diabète pancréatique chez les chiens privés de la partie médullaire de la surrénale. *C. r. Soc. Biol.*, LXXXV, 1212, 1921. — Issekutz B. V., Ueber die Wirkung des Insulins auf die Zuckerbildung der Froschleber. *Kl. Woschr.*, S. 280, 1924. — Lo stesso, Beiträge zur Wirkung des Insulins. Zuckerbildung der ueberlebenden Froschleber. *Bioch. Zeitschr.*, CXLVII, 264, 1924. — Janney N. W. a. Isaacson V. I., The blood sugar in thyroid and other endocrine discases. The significance of hypoglycemia and the delayed blood sugar curve. *Arch. Int. Med.*, XXII, 160. — Jorns G., Ueber das Verhalten der endokrinen Pankreasfunktion nach Unterbindung des Ausführungsgänges. *Kl. Woschr.*, S., 2434, 1926. — Lo stesso, Ueber die Sklerose des Pankreas nach Unterbindung des Ausführungsganges und die Transplantation des sklerotischen Gewebes. *Bruns. Zeitr. z. Kl. Chir.*, CXXXVIII, 682, 1927. — Lo stesso, Ueber die Regerationsvorgänge in freien Pankreastransplantaten *Bruns. Beit. z. Kl. Chir.*, CXXXVIII, 682, 1927. — Kanewskaja, Ueber den Einfluss der Thyreoidektomie und Kastration auf den Bau der Langerhansschen Inseln der Bauchspeicheldrüse. *Verhandl. d. Pathol. Ges.* St. Petersburg. 1920. — Kepinow et Ledebet Petit Dutallis, La rapide disparition du milieu sanguin, de l'insuline introduite pour voie intraveineuse. *C. r. Soc. de Biol.*, T. XCVI, 371, 1927. — Kubany u. Jakob, Explantations und pathologischer Beitrag zur Transplantationsbiologie. *Arch. f. Kl. Chir.*, CXLIV, 767, 1927. — Laguesse, Etude d'un pancréas de lapin, transformé en glande endocrine pure deux ans après resection de son canal éxcréteur. *Arch. d'Anat. Microsc.*, IX, 1906. — Laguesse et Gontier de la Roche, Les îlots de Langerhans dans le pancréas du cobaye après ligature. *C. r. Soc. Biol.*, LIV, 854, 1902. — Lamers K. L. E. Glucose-insuline Evenwicht. *J. Meulemans. Louvain.* — Legiardi Laura, Stato presente della teoria pancreatica del diabete e delle relazioni fra insulina e pituitrina. *Rif. Med.*, pag. 582, 1925. — Lennox W., Stimulation of the sugar regulating mechanism as shown by duplicate blood sugar curves. *J. Biol. Chem.*, LXXIII, 237, 1927. — Leod Mac J. J. R., Insulin and diabetes. A general statement of the physiological and therapeutic effects of insulin. *Brit. med. J.*, II, 833, 1923. — Lombardi E., Azione della dieta di fegato sulla curva glicemica. *Rif. Med.*, N. 1, 1930. — Lucherini, Sui tentativi di cura del diabete mediante la legatura dei dotti di Stenone. *Rif. Med.*, pag. 186, 1929. — Mankowski A., Ueber die mikroscopische Veränderungen des Pankreas nach Unterbindung einzelnen Teile. *Arch. mikr. Anat.*, LIX, 1902. — Lo stesso, L'insuline à la lumière des faits microphysiologiques sur la structure des îlots de Langerhans du pancréas. *Bull. d'histol. appl. à la Phys. et à la Pat.*, IV, 180, 1927. — Mann F. C. a. Magath T. B., Die Wirkungen der totalen Leberextirpation. *Erg. der Phys.*, Bd. XXIII, 212, 1924-1925. — Mansfeld G., Versuche zu einer operative Behandlung des Diabetes. *XII Inter. Phys. Kongr.* in Stockolm, 3-6, VIII, 1924; *XII Inter. Versuche Vorl. Mitt. Klin. Woschr.*, S. 2378, 1924. — Mansfeld G. u. Szirtes, Ueber

die Beziehungen zwischen äusserer und innerer Sekretion der Drüsen. *I Mitt. Arch. exp. Path. u. Pharm.*, CXXX, 1, 1928. — Maragliano D., Dislocazione sperimentale del pancreas. *Rif. Med.*, N. 47, 1924. Massa M. e Maugeri S., Sulla presenza nel sangue di una sostanza ipoglicemizzante. *Pathologica*, pag. 138, 1929. - Maugeri S., Contributo alla conoscenza dell'iperinsulinismo. *Pathologica*, XL, 7, 1930. — Moretti E., Contributo allo studio dei fattori neuroormonici nella patogenesi del diabete mellito. *Boll. Poliambul. Ronzoni*, fasc. III. Nather H., Priesel R. u. Wagner R., Die Beeinflussung des Blutzuckerspiegels durch Unterbindung des Ausführungsganges des Bauchspeicheldrüse. *Kl. Wosch.*, S. 932, 1926. - Nather K., Priesel R. u. Richard R., Die Beeinflussung des Blutzuckerspiegels durch Unterbindung des Ausführungsgänge der Bauchspeicheldrüse beim Hund. *Kl. Woschr.*, N. 44, 1927. — Olmsted J. M. D. a. Logan H. B., The effect of insulin on the central nervous system and its relation to the pituitary. *Amer. Journ. of Phys.*, LXVI. 437, 1923. — Ottolenghi, Sul trapianto del pancreas. *Giorn. R. A. Med. Tor.*, fasc. 7, 1901. — Partos A., Regulation des Kohlehydratstoffwechsels. Ausscheidung des Insulins durch die Nieren und ihre Bedingungen. *Pflüger's Arch.*, CCXXI, 562, 1930. — Pende N., Contributo alla fisiopatologia del pancreas, con speciale riguardo agli isolotti di Langerhans. *Policlinico. Sez. Med.*, XII, 1905. — Lo stesso, La modificazione del pancreas dopo l'occlusione dei canali pancreatici. *Riv. Lab. Anat. Univ. Roma*, XIII, 119, 1907. — Lo stesso, Patologia dell'apparecchio surrenale e degli organi parasimpatici. Soc. Editr. Libraria, Milano 1909. — Lo stesso, Endocrinologia, Vallardi, Milano 1923. — Pennetti G., Il sistema endocrino nell'atireosi congenita. *Rif. Med.*, pag. 1104, 1929. — Pensa, Osservazioni sulla distribuzione dei vasi sanguigni e nervi del pancreas. *Int. Moschr. Anat. u. Phys.*, XXII, 1905. — Perrotti G., Tentativi di cura chirurgica del diabete pancreatico sperimentale, mediante la surrenalectomia. *Annali ital. di Chir.*, IX, 631, 1930. — Lo stesso, Gli effetti della interruzione delle vie escretorie pancreatiche mediante la disinserzione del pancreas dal duodeno. *Annali ital. di Chir.*, fasc. 2, 1931. — Pollak L., Physiologie und Pathologie der Blutzuckerregulation. Ihre Bedeutung für die Pathogenese des Diabetes mellitus. *Erg. Inn. Mediz. u. Kinderheil.*, XXIII, 337, 1923. — Lo stesso, Über den Mechanismus der alimentären Hyperglykämie. *Kl. Wochschr.*, Bd. 6, 1942, 1927. — Lo stesso, Der Mechanismus der alimentären Hyperglykämie. I Mitt. Der Einfluss von Ergotamin und Atropin auf den Ablauf der alimentäre Hyperglykämie. *Naunyn-Schmiedeber's Arch.*, CXL, 1, 1929. Quagliariello G., L'azione dell'insulina. *Arch. Sc. Biol.*, IX, 459, 1927. — Quagliariello G., Recherches et considérations le « sucre protéique ». *Arch. it. Biol.*, p. 106, 1929. — Racchiusa S. e Criserà A., Presunta influenza della midollare della surrenale sull'iperglicemia alimentare. *Boll. S. Ital. B. Sper.*, fasc. 6, 1930. — Retteker, Evolution du testicule et du pancréas après la greffe ou la résection des conduits excréteurs. Paris, Doin, 1928. — Rosenberg M., Normale und pathologische Physiologie der inneren Pankreassekretion. *Hdbuch. inn. Sekretion.*, Bd. II, Lief. 4. — Rosenberg u. Meyer, Beitrag zur Pathogenese des extrainsulären Diabetes. *Deut. Med. Wosch.*, LI, 935, 1925. — Rosenthal N., u. Behrendt, Zur Frage des fermentativen Mechanismus der Insulinresistenz. *Ztschr. exp. med.*, LIII, 562, 1926. — Rubino u. Varela, Reaktive Hypoglikämie durch parenteraler Zuckerzufuhr. *Kl. Woschr.*, S. 2370, 1922. — Sakaguchi K., Beiträge zur Diabetesforschung. *Mitt. med. Fak. Kaiser. Univers. Tokio*, Bd. XX, 345, 1918. — Sandmeyer W., Ueber die Folgen der partiellen Pankreasextirpationen beim Hunde. *Zeitschr. f. Biol.*, XXXI, 12, 1894. - Schultze W., Die Bedeutung der Langerhansschen Inseln im Pankreas. *Arch. f. mikr. Anat.*, LVI, 491, 1900. — Seelig S., Ueber Beziehungen zwischen den Parotis, Pankreas, Blutzucker und Diabetes mellitus. *Kl. Wosch.*, S. 1229, 1928. — Sinegurko L., Vegetative Nervensystem und Innere Sekretion. 4 *Arb. aus d. Psychoneur. Inst. Moskau*, 1927. — Staub H., Bahnung in intermediären Zuckerstoffswechsel. *Bioch. Zeitschr.*, CXVIII, 93, 1921. — Lo stesso, Untersuchungen über den Zuckerstoffwechsel des Menschen. I Mitt. Ueber das Verhalten des Blutzuckers nach peroraler Zufuhr kleiner Glukosemengen. Versuch einer neuen Funktionsprüfung des Zuckerstoffswechsels. *Zeitschr. ges. exp. Med.*, XCI, 44, 1921. — Lo stesso, Insulin, *II Aul. Springer. Berlin* 1925. — Lo stesso, Ueber die Regulation der Insulinsekretion. *Kl. Woschr.*, N. 9, 1927. — Sussi L., Tentativi di cura chirurgica del diabete. (Studio sperimentale e clinico). *Arch. Scienze Med.*, CLIV, 173, 1930. Testa, Tentativi

di innesti di pancreas atrofico in cani pancreasectomizzati. *Rass. Ter. e Pat. Clin.*, N. 7, 1929. — THIROLOIX, Greffe pancréatique. *S. de B.*, p. 156, 1923. — TIBERTI N., Intorno al modo di comportarsi delle isole di Langerhans in seguito alla legatura del condotto pancreatico. *Lo Sperimentale*, pag. 1, 1908. - TODOMU I., Beiträge zur Technick der Pankreastransplantation am Hund. *Beitr. z. Phys.*, III, 333, 1927. - TRAUGOTT C., Ueber das Verhalten des Blutzuckerspiegels bei wiederholter und verschiedener Act enteraler Zuckerzufuhr und dieser Bedeutung für die Leberfunktion. *Kl. Woschr.*, S. 892, 1922. — TURCATTI S., Suprarenales y diabetes pancreatica. *Rev. Soc. Arg. de Biol.*, 1930. - UKAI, Studien über die Transplantation des Pankreas. Transact of Japan. *Path. Soc.*, XIII, 156, 1923. — UMBER, Ernähung und Stoffwechselsrankheiten. Urban e Schwarzenberg. Berlino 1925. - VIALE G., Surrenali e diabete. *Accad. Med. Genova*, pag. 137, 1930. — VILLA L., Il fegato nella iporglicemia da insulina. *Arch. di Fis.*, XXIII, 71, 1925. — VISENTINI A., Ueber das Verhalten des Pankreas nach Unterbindung und Durchschneidung seiner Ausführungsgänge. (Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Physiopathologie der Bauchspeicheldrüse). *Pflügers Arch.*, S. 23, 1908. — WACHSMUTH W. u. LOEWENEK M., Experimentelle Untersuchungen über die alimentäre Hyperglykämie. *Zeitschfr. ges. Med.*, LXX, 301, 1930. — WOLGEMUTH J. u. MOCHIZUKI, Experimentelle Erzeugung chronischer Sympathicotonie. *Klin. Woschr.*, N. 29, 1924. — WOLGEMUTH J. u. SEO, Ueber experimentelle erzeugte chronische Sympathicotonie. *Kl. Woschr.*, N. 30, 1925. — ZAGARI G., Glicoregolazione in patologia epatica. *Atti Soc. It. Progresso Scienze*, Firenze 18-25 settembre 1929. — ZUNZ E. et LA BARRE J., Contribution à l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancréas. Relations entre les sécrétions internes et externes du pancreas. *Arch. Int. de Phys.*, XXXI, 20, 1929. — LO STESSO, Ueber die inneren Sekretion des Pankreas und über die Beziehungen zwischen Exkretion und Inkretion dieser Drüse. *Wien. Kl. Wosch.*, N. 14, 193.

Nota. - Le analisi chimiche furono eseguite nell'Istituto di Fisiologia, le indagini istologiche vennero compiute nell'Istituto di Patologia chirurgica.

Pervenuto alla Redazione il 4 *febbraio* 1931.

INFLUENZA DELL'ALIMENTAZIONE TIROIDEA SULLA COSTITUZIONE MORFOLOGICA DEL SANGUE DEL GIRINO DI RANA.

Di R. Ferrari.

(*Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia*).

I. - Introduzione.

Ben poche sono finora le ricerche eseguite sulla costituzione morfologica del sangue del girino alimentato con tiroide.

Lim (1) osservò, incidentalmente, che il numero delle cellule del sangue in cariocinesi è maggiore nel girino alimentato con tiroide che in quello normale; egli trovò inoltre frequenti anomalie nella forma e nella struttura del nucleo degli eritrociti.

Jordan e Speidel (2) constatarono, durante la metamorfosi dei girini alimentati con tiroide, una spiccata aplasia degli organi della ematopoiesi embrionale (rene, milza). Tale aplasia era accompagnata da un intenso grado di anemia, che durava fino alla morte del girino stesso. Per spiegare questi fatti gli autori espressero l'ipotesi che l'aumento del metabolismo, che si produce sempre nel girino quando venga alimentato con tiroide, possa rendere gli organi ematopoietici del tutto insufficienti a provvedere ad una adeguata formazione delle cellule del sangue.

Poichè così scarse e incomplete sono le ricerche sull'influenza dell'alimentazione tiroidea sulla costituzione morfologica del sangue del girino di rana, mi proposi di studiare sistematicamente questo argomento.

A questo studio fui indotto anche dai risultati degli esperimenti eseguiti da alcuni autori sull'influenza che la tiroide esercita sulla costituzione morfologica del sangue nell'adulto.

Mansfeld (3-4) infatti osservò nel coniglio che l'iniezione di estratti tiroidei provoca un aumento del numero degli eritrociti del

sangue, aumento che è ancor più notevole se il coniglio è stato prima anemizzato con fenilidrazina.

L'autore osservò inoltre che la poliglobulia da soggiorno in alta montagna non si produce affatto nel coniglio stiroidato. Mentre infatti nel coniglio normale, dopo 20 giorni di soggiorno in alta montagna, il numero degli eritrociti presenta sui valori riscontrati al piano, un aumento oscillante dal 7,3 al 19,8 % e l'emoglobina un aumento dal 2,2 al 19,9 %, negli animali stiroidati Mansfeld trovò, nelle stesse condizioni, una forte diminuzione sia del numero degli eritrociti che della quantità di emoglobina. In un'altra serie di esperimenti l' autore constatò che anche la rigenerazione del sangue, dopo trattamento con fenilidrazina e dopo salasso, è meno attiva negli animali stiroidati che in quelli normali.

Questo fatto fu confermato da Wislicki e Gerendasi (5) nei conigli anemizzati con idrossilamina. Secondo questi autori, il midollo osseo reagisce agli stimoli ematopoietici con intensità minore di quello normale.

Recentemente Crosetti (6) osservò che l'iniezione di tiroxina, nel coniglio e nella cavia, provoca sempre un aumento del numero degli eritrociti granulo-filamentosi del sangue.

Asher e Nakao (7) trovarono, d'altra parte, che la tiroide esercita un'influenza sulle cellule della serie bianca del sangue. Questi autori constatarono, infatti, che l'intensa leucocitosi del sangue e il caratteristico quadro di iperplasia mieloide delle cellule della serie bianca, che si producono nel coniglio in seguito all'iniezione ripetuta di acidi nucleinici, non si producono affatto se il coniglio è stato prima stiroidato.

Così pure Charipper (8) in *Necturus maculosus* e Ponder (9-10) nel coniglio osservarono che la somministrazione di preparati tiroidei determina una costante deviazione a sinistra della formula leucocitaria. Questo fatto è particolarmente notevole per *Necturus maculosus*, poichè l'animale, se si eccettua il comportamento del sangue, non dimostra di risentire praticamente alcun disturbo per la somministrazione di tiroide. In base a questi risultati gli autori affermarono che dalla tiroide normalmente debbono partire eccitamenti per i centri granulocitopoietici.

Le ricerche ora riferite dimostrano che la tiroide non è senza influenza sulla costituzione morfologica del sangue nell'adulto. Ora poichè nella rana l'azione dell'alimentazione tiroidea è molto più

manifesta nel periodo embrionale che nell'adulto [Gayda (11)] è da aspettarsi che la sua azione sulla costituzione morfologica del sangue sia pure più evidente nel girino di rana, allorchè si verificano i noti fenomeni dell'acceleramento della metamorfosi e dell'arresto dell'accrescimento corporeo.

II. - Tecnica.

Eseguiii i miei esperimenti su girini di *Rana esculenta,* i quali provenivano da uova deposte in laboratorio il 18 aprile 1930.

Tenni tutti i girini insieme in un grande recipiente di vetro fino al 10 maggio. A partire da questo giorno cominciai ad alimentarli con carne fresca di rana, tagliata in minutissimi pezzi e poi ridotta in poltiglia in un mortaio.

Pure nello stesso giorno però trasportai alcuni di questi girini in un altro recipiente di vetro e cominciai ad alimentarli con tiroide fresca di cane o di coniglio, tagliata in piccoli pezzi. Ai due gruppi di girini nei giorni seguenti cambiai l'acqua molto spesso.

In questi primi esperimenti la temperatura dell'acqua oscillava intorno ai 12° C.

Tanto sui girini alimentati con carne, quanto su quelli trattati con tiroide, eseguii, poi, ogni due o tre giorni, esami del sangue. A questo scopo sacrificavo qualcuno dei girini in esperimento; tagliavo il cuore con una forbicina appuntita e col sangue che usciva dalla ferita facevo preparati per striscio. Coloravo questi con *May-Grünwald-Giemsa* e in essi determinavo la formula eritroleucocitaria del sangue, secondo il metodo statistico.

Seguendo lo stesso procedimento, ripetei più tardi gli esperimenti a temperature più elevate; cioè a partire rispettivamente dal 31 maggio, dal 10 dal 20 giugno, alimentai con tiroide gruppi di girini, che erano stati mantenuti fino allora con carne e praticai poi su di essi gli esami del sangue. In questi ultimi esperimenti la temperatura dell'acqua nei recipienti oscillava intorno ai 18°-25,5° C.

III. - Risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti sono prospettati nelle tabelle I-IV.

TABELLA I.

Esperimenti eseguiti a 12° C sui girini alimentati con carne e su quelli alimentati con tiroide.

Alimento	Data dell'esperimento (1930)	Età dei girini in giorni	Lunghezza dei girini in mm	Formula eritroleucocitaria									
				Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatici %	Eritrociti ortocromatici %	Leucociti neutrofili %	Leucociti eosinofili %	Leucociti basofili %	Linfociti %	Monociti %	Cellule endoteliali %
Carne	10-V	23	12-13										
	12- »	25	12-13										
	15- »	28	12-13	4	28	66	0	0	0	0	0	0	2
	16- »	29	13-14										
	20- »	33	15-16										
	25- »	38	16-17	2	26	70	0	0	0	0	0	0	2
Tiroide	10-V	23	12-13										
	12- »	25	12-13										
	15- »	28	12-13	5	30	64	0	0	0	0	0	0	1
	16- »	29	13-14										
	20- »	33	15-16										
	25- »	38	16-17	3	23	72	0	0	0	0	0	0	2

Osservazioni — L'alimentazione con carne o con tiroide si inizia il 10 maggio. Tanto i girini alimentati con carne quanto quelli alimentati con tiroide presentano gli abbozzi degli arti posteriori appena evidenti, ma nessuna differenza si può osservare fra questi e quelli sia nelle manifestazioni vitali, sia nell'aspetto morfologico.

TABELLA II.

Esperimenti eseguiti a 18°C sui girini alimentati con carne e su quelli alimentati con tiroide.

Alimento	Data dell'esperimento (1930)	Età dei girini in giorni	Lunghezza dei girini in mm	Formula eritroleucocitaria									
				Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatici %	Eritrociti ortocromatici %	Leucociti neutrofili %	Leucociti eosinofili %	Leucociti basofili %	Linfociti %	Monociti %	Cellule endoteliali %
Carne	31-V	39	20-21										
	2-VI	41	20-21										
	6- »	45	22-23	2	20	68	5	1	0	0	3	1	0
	10- »	49	24-25										
	15- »	54	26-27	1	18	67	8	2	0	0	2	1	1
Tiroide	31-V	39	20-21										
	2-VI	44	20										
	6- »	45	16-17	3	29	43	16	2	0	0	7	0	0
	10- »	49	15-16										
	15- »	54	13-15										

Osservazioni — L'alimentazione con carne si inizia il 10 maggio, quella con tiroide il 31 maggio, dopo un periodo di alimentazione con carne dal 10 al 31 maggio. I girini alimentati esclusivamente con carne presentano, negli esperimenti sopra riportati, gli abbozzi degli arti posteriori ben evidenti. I girini alimentati con tiroide presentano il 2 giugno gli abbozzi degli arti posteriori assai più evidenti che quelli dei girini della stessa età alimentati con carne. Nei giorni successivi i girini alimentati con tiroide presentano una diminuzione progressiva della lunghezza del corpo; il 10 giugno essi nuotano con difficoltà e il 15 giugno sono quasi immobili e non si nutrono più.

TABELLA III.

Esperimenti eseguiti a 20° C sui girini alimentati con carne e su quelli alimentati con tiroide.

Alimento	Data dell' esperimento (1930)	Età dei girini in giorni	Lunghezza dei girini in mm	Formula eritroleucocitaria									
				Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti ortocromatici %	Leucociti neutrofili %	Leucociti eosinofili %	Leucociti basofili %	Linfociti %	Monociti %	Cellule endoteliali %
Carne	10-VI	49	24-25										
	12- »	51	25-26										
	15- »	54	26-27	1	18	65	10	1	0	0	4	1	0
	18- »	57	28-29										
	22- »	61	31-32	1	20	62	13	2	0	0	3	0	1
Tiroide	10-VI	49	24-25										
	12- »	51	24-25										
	15- »	54	22-23	4	28	40	18	2	0	0	7	1	0
	18- »	57	18-19										
	22- »	61	16-17	3	30	44	19	1	0	0	6	0	0

Osservazioni — L' alimentazione con carne si inizia il 10 maggio, quella con tiroide si inizia il 10 giugno, dopo un periodo di alimentazione con carne dal 10 maggio al 10 giugno. I girini alimentati esclusivamente con carne presentano, negli esperimenti sopra riportati, gli abbozzi degli arti posteriori molto pronunciati. I girini alimentati con tiroide presentano dal 12 al 15 giugno gli arti posteriori completamente sviluppati; nei giorni successivi mostrano una diminuzione progressiva della lunghezza del corpo, nuotano con difficoltà e finiscono per rimanere quasi immobili, senza nutrirsi affatto.

TABELLA IV.

Esperimenti eseguiti a 25,5° C sui girini alimentati con carne e su quelli alimentati con tiroide.

Alimento	Data dell'esperimento (1930)	Età dei girini in giorni	Lunghezza dei girini in mm	Formula eritroleucocitaria									
				Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti ortocromatici %	Leucociti neutrofili %	Leucociti eosinofili %	Leucociti basofili %	Linfociti %	Monociti %	Cellule endoteliali %
Carne	20-VI	59	30-31										
	22-»	61	31-32										
	25-»	64	34-35	0	16	60	17	2	1	0	8	1	0
	30-»	69	36-37										
	5-VII	74	39-40	0	8	45	39	3	0	0	4	0	1
Tiroide	20-VI	59	30-31										
	22-»	61	80-31										
	25-»	64	27-28	5	26	35	23	2	0	1	7	1	0
	30-»	69	22-23										
	5-VII	74	19-20										

Osservazioni — L'alimentazione con carne si inizia il 10 maggio, quella con tiroide il 20 giugno, dopo un periodo di alimentazione con carne dal 10 maggio al 20 giugno. I girini alimentati esclusivamente con carne presentano, negli esperimenti sopra riportati, gli arti posteriori quasi completamente sviluppati e già a partire dallo stesso giorno si osserva diminuzione della lunghezza del corpo; questa si accentua progressivamente nei giorni successivi, così che i girini cominciano a nuotare con difficoltà e finiscono per rimanere completamente immobili e non si nutrono più.

IV. - Discussione dei risultati sperimentali.

Se si esaminano ora i risultati ottenuti dagli esperimenti si nota anzitutto che l'alimentazione tiroidea nei girini tenuti alla temperatura di 12° C non determina alcun fenomeno di acceleramento della metamorfosi. In tali condizioni la formula eritroleucocitaria del sangue dei girini alimentati con tiroide non differisce da quella dei girini alimentati con carne. Nei girini tenuti invece ad una temperatura più elevata, l'alimentazione tiroidea determina sempre i noti fenomeni dell'acceleramento della metamorfosi e dell'arresto dell'accrescimento corporeo.

In queste condizioni la costituzione morfologica del sangue presenta alcune variazioni in confronto di quella dei girini della stessa età e tenuti alla stessa temperatura, ma alimentati con carne.

Infatti nei girini alimentati con tiroide la formula eritroleucocitaria dimostra un maggior numero sia di forme più immature sia di quelle più mature della serie rossa del sangue ed un maggior numero di linfociti. Ma se si confronta la costituzione morfologica del sangue dei girini alimentati con carne, ma di età più avanzata, si osserva che in questi ultimi è pure aumentato, come nei primi, il numero delle forme più mature del sangue, ma per contro è diminuito il numero di quelle più immature.

Ciò indica che mentre nei girini alimentati con carne la maturazione delle cellule del sangue si compie gradualmente e quasi nella stessa misura per ciascuna forma di cellule, nei girini alimentati con tiroide la maturazione è bensì in generale accelerata, ma si produce in maniera disarmonica, così da apparire notevolmente più avanzata per certe forme di cellule che per altre.

Oltre a ciò, nei girini alimentati con tiroide, si osservano sempre spiccatissima anisocitosi e poichilocitosi di quasi tutti i corpuscoli del sangue.

Questi presentano talvolta anisocromia e, analogamente a quanto osservò Lim, alterazioni della forma e della struttura del nucleo. Specialmente i nuclei dei corpuscoli rossi sono spesso picnotici o in cariorressi. Le cellule del sangue presentano talvolta anche i segni di una abnorme maturazione nucleo-citoplasmatica. Così negli elementi della serie eritrocitaria il nucleo può avere tutti i caratteri

della completa maturità, mentre il citoplasma è ancora immaturo, e cioè basofilo o policromatofilo.

Tutti questi reperti, nel loro complesso, dimostrano che nei girini di rana, che sono alimentati con tiroide e che presentano i noti fenomeni dell'acceleramento della metamorfosi e dell'arresto dell'accrescimento, la ematopoiesi, a differenza di quanto si verifica nei girini della stessa età e tenuti alla stessa temperatura, ma alimentati con carne, oltre ad essere notevolmente accelerata e disarmonica, è anche profondamente anormale.

Quanto si verifica per la ematopoiesi dei girini alimentati con tiroide è perfettamente analogo a quanto succede per il loro sviluppo corporeo: anche qui accanto ad acceleramento della metamorfosi si nota anormalità e disarmonia di essa. Si può perciò dire che l'azione che l'alimentazione tiroidea esercita sulla maturazione del sangue è uguale a quella che essa esplica sull'evoluzione degli altri tessuti. Del resto anche le condizioni in cui i fenomeni avvengono sono le stesse; infatti in entrambi i casi gli effetti dell'alimentazione tiroidea sono più evidenti quando i girini sono tenuti ad una temperatura più elevata.

V. - Conclusioni.

1. - Nei girini di *Rana esculenta*, che sono alimentati con tiroide e che presentano i noti fenomeni dell'acceleramento della metamorfosi e dell'arresto dell'accrescimento, la ematopoiesi, a differenza di quanto si verifica nei girini della stessa età e tenuti alla stessa temperatura, ma alimentati con carne, è notevolmente accelerata, ma è anche profondamente disarmonica e anormale.

2. - L'azione che l'alimentazione tiroidea esercita sulla maturazione del sangue è dunque uguale a quella che essa esplica sull'evoluzione degli altri tessuti.

VI. - Bibliografia.

(1) Jordan H. E. a. Speidel C. C. - Blood cell formation and distribution in relation to the mechanism of thyroid - accelerated metamorphosis in the larval frog. *The Journ. of exper. Med.*, 1923, **38**, 529.

(2) Lim R. K. S. - The histology of tadpoles fed with thyroid. *Quart. J. Physiol.*, 1920, **12**, 303.

(3) Mansfeld G. - Blutbildung und Schilddrüse. *Pflüger Arch.*, 1913, **152**, 23.

(4) Mansfeld G. - Beiträge zur Physiologie der Schilddrüse. *Pflüger Arch.*, 1920, **181**, 249.

(5) Wislicki L. u. Gerendasi G. - Das Verhalten des schilddrüsenlosen Organismus gegenüber der experimentellen Hydroxylaminvergiftung. *Zeitsch. experim. Med.*, 1929, **67**, 76.

(6) Crosetti L. - Il reperto ematologico negli stati di ipertiroidismo. *Haematologica*, 1930, **11**, 283.

(7) Asher L. u. Nakao H. - Fortgesetze Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse, Thymus, Milz und Knochenmark. *Biochem Z.*, 1925, **166**, 337-350.

(8) Charipper H. - Studies on the Arneth count. XII. The effect of the iniection of thyroid extract on the polinuclear count in a perennibranchiate amphibian. (Necturus maculosus). *Quart. Journ. exper. Physiol.*, 1928, **19**, 109.

(9) Ponder E. - The effect of thyroid administration on the Arneth count in rabbits. *Ibidem*, 1924, **14**, 327.

(10) Idem - Studies on the Arneth count. IV. The deflection of the count by thyroid injections. *Ibidem*, 1916, **16**, 227.

(11) Gayda T. - Contributo allo studio della fisiologia della tiroide della rana. *Arch. di Fisiologia*, 1922, **20**, 209.

Sonderabdruck aus „Zeitschrift für vergleichende Physiologie“. Bd. 16, Heft 4.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal prof. Tullio Gayda.)

RICERCHE EMATOLOGICHE NELLO SVILUPPO ONTOGENETICO DELLA RANA.

NOTA I. SULLA PRIMITIVA CELLULA MIGRANTE DEL SANGUE.

Dott. Rodolfo Ferrari.

Con 4 figure nel testo.

(*Eingegangen am 9. Februar 1932.*)

SCHOOLS OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

I. Introduzione e tecnica.

Nelle prime fasi dello sviluppo ontogenetico dei mammiferi, di Guglielmo (1) constatò la presenza, nel sangue circolante, di cellule mesenchimali (primitive cellule migranti del sangue) nelle varie fasi di evoluzione verso i megaloblasti. In queste ricerche l'autore si servì di embrioni di coniglio e di cavia della lunghezza di mm 0,7 fino a mm 15. Negli embrioni più piccoli egli esaminò preparati per sezione, in quelli in fase più avanzata di sviluppo, raccolse, con un capillare di vetro, il sangue dei primi abbozzi vascolari e ottenne preparati di sangue per striscio, paragonabili, per chiarezza e conservazione degli elementi, ai comuni strisci di sangue di adulto. di Guglielmo osservò in questo modo che le cellule mesenchimali nel sangue sono polimorfe, d'aspetto endotelioide, dal protoplasma lievemente basofilo, spesso vacuolizzato, a contorno più o meno irregolare, con fenomeni caratteristici di clasmatosi; il nucleo ha una struttura a spugna, a larghe maglie, con due o tre nucleoli bleu chiari, senza sovrapposizione cromatinica. di Guglielmo osservò inoltre che alcune di queste cellule subiscono un progressivo arrotondamento del loro protoplasma ed un aumento graduale della basofilia e si trasformano perciò in tipici megaloblasti dal protoplasma intensamente basofilo.

Secondo di Guglielmo, la prima cellula staminale del sangue non è dunque un linfocito o un megaloblasto basofilo o un emocitoblasto transitorio, come sostenevano rispettivamente Maximow (2), Schridde (3), Ferrata e Negreiros-Rinaldi (4), ma è invece una cellula istiocitaria, clasmacitoide, da cui derivano per fasi successive e ben distinte i megaloblasti basofili. In base ai caratteri morfologici sopra descritti di Guglielmo espresse inoltre la ipotesi che la prima cellula staminale del sangue eserciti anche una funzione fagocitaria macrofaga.

In continuazione di queste prime ricerche di DI GUGLIELMO sulla primitiva cellula migrante del sangue embrionale dei mammiferi, mi sembrò interessante esaminare, secondo la tecnica indicata dall' autore, la costituzione morfologica del sangue embrionale degli anfibi.

A compiere queste indagini fui indotto anche dal fatto che, come risulta dalle ricerche sistematiche di DANTSCHAKOFF (5—7) sulla ematopoiesi embrionale dei vertebrati inferiori, nessuna cellula mesenchimale in evoluzione verso i megaloblasti è stata finora osservata nel sangue di questi animali. Secondo DANTSCHAKOFF le cellule mesenchimali dell' area vascolare primitiva si differenziano in due tipi cellulari: uno di questi, allungandosi e appiattendosi, diventa l'endotelio dei vasi primitivi, l'altro, liberandosi dai contatti con le cellule vicine e aumentando la sua basofilia plasmatica, diventa la primitiva cellula del sangue, che finisce poi col cadere nel lume dei vasi primitivi. Nello stesso tempo anche le cellule endoteliali, ingrossandosi e staccandosi dalla parete vasale, concorrono a costituire le prime cellule staminali del sangue. Queste non sono, secondo DANTSCHAKOFF, cellule mesenchimali, ma cellule morfologicamente ben differenziate e simili ai linfociti (emocitoblasti).

Eseguii le mie ricerche su girini di *Rana esculenta*, della lunghezza di 8—10 mm, con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori. Essi provenivano da uova deposte in laboratorio da alcune coppie di rane. Su questi girini eseguii quotidianamente preparati di sangue per striscio e preparati per sezione.

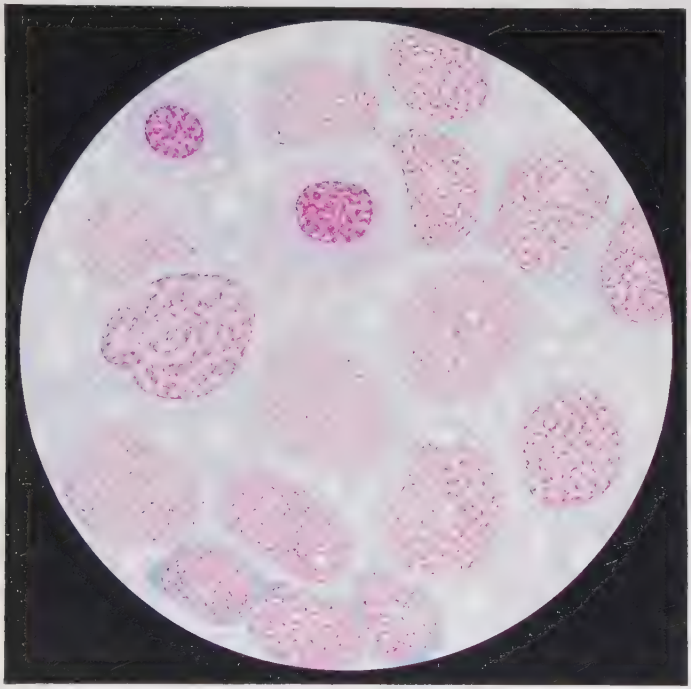
Ottenevo il sangue per gli strisci secondo la tecnica indicata da DI GUGLIELMO (1), tagliando cioè il cuore, non appena ciò era possibile, con una forbicina appuntita e prelevando il sangue, che usciva dalla ferita, con un tubicino capillare. Eseguivo invece i preparati per sezione sul girino intero, fissato in liquido di ZENKER-formolo ed incluso in paraffina. Coloravo gli strisci di sangue e le sezioni col metodo MAY-GRÜNWALD-GIEMSA e col GIEMSA.

II. Risultati.

I risultati delle mie ricerche sulla primitiva cellula migrante del sangue sul girino di rana sono riprodotti nella tavola. — Come risulta chiaramente dall'esame dei miei preparati, eseguiti nei primi stadi dello sviluppo ontogenetico della rana, le cellule del sangue sono rappresentate esclusivamente da cellule mesenchimali e da cellule della serie emoglobinica megaloblastica (fig. 1).

La struttura morfologica della cellula mesenchimale circolante (fig. 1, 3) è molto simile a quella della primitiva cellula migrante del sangue descritta da DI GUGLIELMO nei primi stadi dello sviluppo ontogenetico dei mammiferi. Si tratta infatti di una cellula polimorfa, d'aspetto endotelioide, con protoplasma vacuolizzato, lievemente basofilo, a contorno più o meno irregolare, con fenomeni di clasmatosi. Il nucleo, a forma di

"piccola spugna" ha struttura cromatinica a maglie sottili. I nucleoli sono bleu chiari, senza sovrapposizione cromatinica. Nella massa proto-



Strisci di sangue di girino di rana della lunghezza di 8—10 mm con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori.
Fig. 1. Cellule mesenchimali (primitive cellule migranti del sangue) in evoluzione megaloblastica.

Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.
Fig. 2. Cellula mesenchimale del sangue con granuli di vitello incorporati nel protoplasma. — Fig. 3. Forme di passaggio tra la primitiva cellule migrante del sangue e le cellule emoglobiniche primordiali. — Fig. 4. Promegaloblasto di rana.

plasmatica di questa cellula sono talvolta incorporati grossi granuli della sostanza vitellina.

Si deve inoltre rilevare che, analogamente a quanto DI GUGLIELMO constatò nel sangue embrionale dei mammiferi, anche in quello degli anfibi, come risulta dalle fig. 1, 3, 4, esistono numerose forme di passaggio tra la cellule mesenchimale del sangue e i megaloblasti. Il protoplasma della cellula mesenchimale subisce cioè un progressivo arrotondamento ed un aumento, per fenomeno paradosso, della sua basofilia; il nucleo perde gradualmente i suoi caratteri istioidi e la intera cellula si trasforma nella cellula emoglobinica primordiale (promegaloblasto basofilo) (fig. 4).

L'esame della costituzione morfologica di questa e delle altre cellule emoglobiniche primordiali del sangue mise poi in evidenza alcuni nuovi particolari, che verranno descritti altrove. Qui importa per ora rilevare che i reperti sopra descritti attestano la presenza nel sangue circolante, nei primi stadi dello sviluppo ontogenetico della rana, di cellule mesenchimali in evoluzione megaloblastica. Perciò contrariamente a quanto riteneva DANTSCHAKOFF, la prima cellula staminale del sangue degli anfibi non è un linfocito od un emocitoblasto, ma una cellula istiocitaria indifferenziata (primitiva cellula migrante del sangue). Si deve poi rilevare che la struttura morfologica della cellula staminale del sangue della rana è simile a quella degli animali superiori.

La presenza di granuli del vitello nel protoplasma di questa cellula conferma inoltre la ipotesi, espressa da DI GUGLIELMO, che la primitiva cellula migrante del sangue eserciti una funzione macrofaga. Tale funzione si esplica verso i granuli del vitello ed è, perciò, una funzione di nutrizione.

III. Conclusioni.

I risultati delle mie ricerche sulla primitiva cellula migrante del sangue della rana si possono riassumere come segue:

1. Nei girini di rana della lunghezza di 8—10 mm con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori è documentata la presenza nel sangue circolante di cellule mesenchimali in evoluzione megaloblastica (primitiva cellula migrante del sangue). La struttura morfologica di questa cellula è simile a quella degli animali superiori.

2. La presenza dei granuli del vitello nel protoplasma della primitiva cellula migrante del sangue dimostra che essa esercita una funzione macrofaga di nutrizione.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse meiner morphologischen Untersuchungen über die Wanderzelle des Froschblutes lassen sich in folgender Weise zusammenfassen.

1. Im Blute von Kaulquappen, die eine Länge von 8—10 mm haben und bei denen weder Kiemen noch Extremitäten zu sehen sind, findet man besondere Mesenchymalzellen, die sich allmählich in Megaloblasten umwandeln. Den morphologischen Bau dieser Zellen sieht man ebenfalls bei allen höheren Tieren.

2. Das Vorhandensein von Dottergranulis im Protoplasma der primitiven Wanderzelle des Blutes beweist, daß diese Wanderzelle eine Ernährungstätigkeit ausübt wie die Makrophagen.

IV. Bibliografia.

1. **Di Guglielmo, G.:** Sulla primitiva cellula migrante del sangue. Haematologica (Pavia) **3**, 469 (1922). — 2. **Maximow, A.:** Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. I. Die frühesten Entwicklungsstadien der Blut- und Bindegewebszellen beim Säugetierembryo. Arch. mikrosk. Anat. **73**, 1 (1909). — 3. **Schridde, H.:** Die Entstehung der ersten embryonalen Blutzellen des Menschen. Verh. dtsch. path. Ges., Dresden 1907. — 4. **Ferrata, A.** e **Negreiros-Rinaldi:** Über die Lymphoiden-Vorstufe der hämoglobinhaltigen Normoblasten und Megaloblasten beim Embryo und beim Erwachsenen in normalem und pathologischem Zustand. Virchows Arch. **215**, 115 (1914). — 5. **Dantschakoff, W.:** Über Blutbildung beim Hühnerembryo. Verh. anat. Ges., 22. Vers. in Berlin 1908. — 6. Über das erste Auftreten der Blutelemente im Hühnerembryo. Vorl. Mitt. Fol. haemat. (Lpz.) **4**, 2 (1907). — 7. Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln. I. Die erste Entstehung der Blutzellen beim Hühnerembryo. Anat. Hefte **37**, 1 (1908).

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal prof. Tullio Gayda.)

RICERCHE EMATOLOGICHE NELLO SVILUPPO ONTOGENETICO DELLA RANA.

NOTA II. SULLA FUNZIONE FAGOCITARIA DEI MEGALOBLASTI.

Dott. Rodolfo Ferrari.

Con 12 figure nel testo.

(*Eingegangen am 9. Februar 1932.*)

Nella nota precedente (1) dimostrai la presenza nel sangue embrionale della rana di cellule mesenchimali in evoluzione megaloblastica e in attività fagocitaria. Identificai tali cellule come primitive cellule migranti del sangue e constatai che la loro struttura morfologica è in tutto simile a quella osservata nelle prime fasi dello sviluppo ontogenetico dei mammiferi. Constatai inoltre che l'attività fagocitaria della primitiva cellula migrante del sangue nella rana si esplica verso i granuli del vitello ed è una funzione di nutrizione. Nel seguire sui preparati di sangue per striscio le fasi di evoluzione della primitiva cellula migrante del sangue verso le cellule emoglobiniche primordiali osservai poi nuovi reperti degni di particolare rilievo. Essi sono riprodotti nella tavola annessa.

Come risulta dall'esame di questa tavola, la struttura morfologica delle cellule della serie emoglobinica megaloblastica della rana è la seguente:

1. *Promegaloblasto della rana* (fig. 3). Questa cellula ha una forma, per lo più tondeggiante. Il protoplasma, che è sempre vacuolizzato e inglobante grossi granuli della sostanza vitellina, presenta, per fenomeno paradosso, una basofilia molto accentuata. Il nucleo ha una struttura cromatinica a maglie sottili, senza sovrapposizione cromatinica, ed è provvisto di nucleoli di colore bleu molto oscuro.

2. *Megaloblasto basofilo* (fig. 4—10). La cellula ha protoplasma ampio, intensamente basofilo, sempre vacuolizzato e contenente granuli del vitello. Alcuni di questi sono distintamente circondati da una zona protoplasmatica più chiara. Il nucleo presenta un forte ispessimento della cromatina che ricopre e, talvolta, nasconde i nucleoli. Tra le maglie della cromatina il fondo è chiaramente rosa.

3. *Megaloblasto policromatofilo* (fig. 11—12). E'modificato il rapporto nucleo-citoplasmatico della cellula. Il nucleo è più piccolo e il protoplasma, ampio, è policromatofilo. Nel citoplasma non si osservano più i granuli del vitello; rari sono i vacuoli.

Fig. 1.

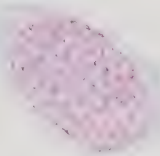


Fig. 2.

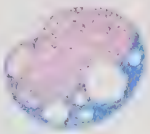


Fig. 3.

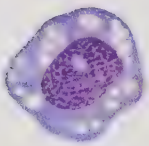


Fig. 4.

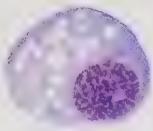


Fig. 5.

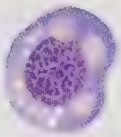


Fig. 6.

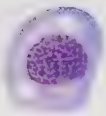


Fig. 7.

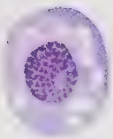


Fig. 8.

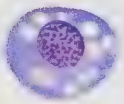


Fig. 9.

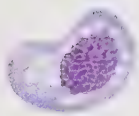


Fig. 10.

Fig. 11.

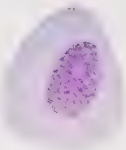


Fig. 12.

Strisci di sangue di girino di rana della lunghezza di 8—10 mm con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori.

Fig. 1—12. Cellule della serie emoglobinica megaloblastica nel sangue circolante. Fig. 1—2. Cellule primitive migranti del sangue. — Fig. 3. Promegaloblasto di rana. — Fig. 4—10. Megaloblasti basofili, con granuli di vitello incorporati nel protoplasma. — Fig. 11—12. Megaloblasti policromatofili.

L'esame del sangue del girino di rana, della lunghezza di 8—10 mm con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori, rivela adunque la presenza di granuli di vitello nel protoplasma delle cellule emoglobiniche primordiali del sangue (promegaloblasto, megaloblasto basofilo). Questo fatto dimostra che l'attività fagocitaria di nutrizione verso i granuli del vitello non si verifica soltanto nella primitiva cellula migrante

del sangue, ma anche nelle cellule più differenziate della serie emoglobinica megaloblastica.

Nella interpretazione di questo singolare reperto si può facilmente escludere che si tratti di fatto artificiale o da striscio, poichè esso si riscontra anche nei preparati per sezione. A questo proposito devo anzi rilevare che in una delle bellissime tavole con cui Maximow (2) documenta le sue ricerche sulla ematopoiesi embrionale è disegnata una cellula, identica a quelle da me osservate nel sangue circolante del girino di rana, con granuli del vitello incorporati nel citoplasma. Nel testo non trovo però nessuna indicazione relativa a questo reperto. D'altra parte pochissimi altri cenni trovai nella letteratura che siano in relazione col fatto da me osservato.

Così Di Guglielmo (3), nelle sue ricerche sulla serie megaloblastica dei mammiferi, si limitò a rilevare che la costituzione morfologica dei megaloblasti è spesso caratterizzata da un protoplasma fortemente vacuolizzato, " forse per dissoluzione di lipoidi in seguito alla fissazione in alcool".

Omodei-Zorini (4) nel sangue circolante di uomo affetto da una forma di eritremia megaloblastica osservò invece la presenza di promegaloblasti linfoidi, il cui protoplasma privo di granulazioni, era ricco di propaggini a forma di spina. Questa osservazione è importante in quanto dimostra che anche nell'uomo le cellule emoglobiniche della serie megaloblastica assumono, in date condizioni, particolarità morfologiche proprie delle cellule clasmacitoidi.

Debbo infine ricordare che potei confermare la natura emoglobinica delle cellule da me osservate, eseguendo su di esse la colorazione sopravitale con brillant-Kresilblau per la sostanza granulo-filamentosa, secondo la tecnica indicata da Cesaris-Demel (5) e la reazione perossidasica della emoglobina, secondo la tecnica da me altrove indicata (6) per la dimostrazione citologica della emoglobina nei corpuscoli del sangue. Entrambe queste reazioni riuscirono positive.

Conclusioni.

1. L'esame del sangue del girino di rana, della lunghezza di 8—10 mm, con branchie coperte e senza abbozzi degli arti posteriori, dimostra la presenza di granuli del vitello nel protoplasma delle cellule emoglobiniche primordiali del sangue (promegaloblasto, megaloblasto basofilo).

2. Questo fatto dimostra che l'attività fagocitaria di nutrizione verso i granuli del vitello non si verifica soltanto nella primitiva cellula migrante del sangue, ma anche nelle cellule più differenziate della serie emoglobinica megaloblastica.

Zusammenfassung.

1. Es wurde das Blut von Kaulquappen untersucht, die 8—10 mm lang waren, bei denen die Kiemen bedeckt waren und bei denen von den hinteren Extremitäten noch nichts zu sehen war. Im Blute finden sich Dottergranula im Protoplasma der zuerst auftretenden hämoglobinhaltigen Zellen.

2. Daraus ergibt sich, daß die Fähigkeit zur Phagozytose gegenüber den Dotterkügelchen nicht nur nachgewiesen werden kann bei der primitiven Wanderzelle des Blutes, sondern auch bei viel differenzierteren Zellen aus der Reihe der hämoglobinhaltigen Megaloblasten.

Bibliografia.

1. **Ferrari, R.:** Ricerche ematologiche nello sviluppo ontogenetico della rana. Nota I. Sulla primitiva cellula migrante del sangue. Z. f. vergl. Physiol. **16**, 757 (1932). — 2. **Maximow, A.:** Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. I. Die frühesten Entwicklungsstadien der Blut- und Bindegewebszellen beim Säugetierembryo. Arch. mikrosk. Anat. **73**, 1 (1909). — 3. **Di Guglielmo, G.:** Sulla primitiva cellula migrante del sangue. Haematologica (Pavia) **3**, 469 (1922). — 4. **Omodei-Zorini, A.:** Eritremi-acuta megaloblastica con fenomeni di porpora emorragica. Boll. Soc. med.-chir. Pavia **41**, 379 (1927). — 5. **Cesaris-Demel, A.:** Sulla colorazione a fresco del sangue. Fol. clin. chim. et microsc. (Bologna) **1**, 21 (1908). — 6. **Ferrari, R.:** Sulla formazione della emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana. Haematologica (Pavia) **11**, 267 (1930).

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia.*

Vol. XXXI° — Fasc. 2°

INFLUENZA DELLE PARATIROIDI SULLA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

Dott. Rodolfo Ferrari.

Aiuto.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

Molta importanza per lo studio del determinismo della coagulazione del sangue possono avere le ricerche dirette a stabilire le modificazioni che le ghiandole endocrine possono indurre sulla coagulabilità del sangue. Per quanto riguarda le paratiroidi però le ricerche sono molto scarse e incomplete.

Così Simpson e Rasmussen (1-2) si limitarono ad osservare che nel cane la tiroparatiroidectomia è seguita da un allungamento non costante del tempo di coagulazione del sangue.

Dragsted e Sudan (3) osservarono che nel cane tiroparatiroidectomizzato e morto per tetania il sangue rimane per lungo tempo incoagulato nei grossi vasi e nelle cavità del cuore.

Cantarow, Caven e Gordon (4) constatarono, d'altra parte, che la somministrazione per via sottocutanea dell'ormone paratiroideo di Collip provoca nel cane, oltre ad un aumento del calcio nel siero, un accorciamento del tempo di coagulazione.

Brougher (5) infine confermò le osservazioni degli autori precedenti accertando che nel cane, dopo la tiroparatiroidectomia, il tempo di coagulazione si allunga, mentre diminuisce la quantità di calcio nel siero. In due casi, in cui gli accessi tetanici furono particolarmente violenti, il sangue, raccolto durante le convulsioni, rimase incoagulabile rispettivamente otto e trenta ore.

Debbo rilevare che in tutte le ricerche ora ricordate, oltre alla paratiroidectomia, fu praticata anche l'asportazione della tiroide. Ora, poichè è noto da Kottmann e Lidsky (6), da Gray (7), da Ichikawa

e Sasaki (8) e da altri che la tiroide esercita di per sè un'influenza sulla coagulazione del sangue (ora acceleramento, ora ritardo), mi proposi di riprendere in esame sistematicamente la questione, limitando l'intervento operatorio alla sola paratiroidectomia ed estendendo le indagini, oltre che al tempo di coagulazione del sangue, anche alle determinazioni della trombina, del fibrinogeno, della antitrombina, del sierozima, del citozima e del calcio del siero.

II. — Tecnica.

I miei esperimenti consistevano nel determinare nel cane il tempo di coagulazione, la trombina, il fibrinogeno, l'antitrombina, il sierozima, il citozima e il calcio del siero, prima e subito dopo l'asportazione delle paratiroidi, ripetendo poi le determinazioni altre due o tre volte a varia distanza di tempo dall'atto operatorio.

Eseguii questi esperimenti su sei cani.

In altri due cani praticai le stesse determinazioni e gli stessi interventi che nei precedenti, iniziando però, alla distanza di qualche giorno dalla paratiroidectomia, un trattamento con estratto di paratiroidi. A questo scopo iniettavo quotidianamente all'animale, per via endomuscolare, cm^3 4,5 di paratiroidina Vassale, contenenti i principii attivi di g. 0,54 di ghiandola paratiroide fresca di bue. La paratiroidina mi fu gentilmente favorita dall'Istituto Sieroterapico Milanese.

Per eseguire la paratiroidectomia seguii la tecnica indicata da Comel (9). Asportavo cioè dapprima la paratiroide supero-esterna, dopo averla isolata dalla ghiandola tiroide, e, subito dopo, quella infero-interna assieme alla metà o ai due terzi inferiori della ghiandola tiroide.

Per la determinazione del tempo di coagulazione seguivo il metodo di Feissly (10); per quella della quantità di trombina nel siero di sangue il metodo di Wohlgemuth (11); per quella del fibrinogeno nel plasma il metodo di Foster e Whipple (12); per quella dell'antitrombina nel plasma il metodo di Howell e Hess (13). Questi metodi si trovano descritti dettagliatamente in un lavoro di Livraga (14) compiuto in questo Istituto.

La determinazione del calcio nel siero fu eseguita col metodo di Kramer e Tisdall (15).

I campioni di sangue per i vari dosaggi erano raccolti dall'animale digiuno da 12 ore mediante una cannula paraffinata innestata nella

carotide o nell'arteria femorale, la cui parete, prima di essere tagliata, veniva spalmata con olio di paraffina.

Per dosare il sierozima seguii il metodo di Bordet e Delange (16) modificato da Izar e Ceruti (17). Secondo tale metodo preparavo anzitutto il plasma privo di sierozima. A questo scopo aggiungevo a 5 cm^3 di plasma ossalatato di cane normale 1 cm^3 di una sospensione di fosfato tricalcico di fresco preparato, nel modo indicato da Bordet e Delange; agitavo poi il plasma così trattato e lo centrifugavo energicamente per quindici minuti, decantandolo successivamente in un piccolo cilindro. Diluivo il campione di sangue prelevato per il dosaggio del sierozima 100 volte con acqua distillata per emolizzarlo. Al momento di eseguire il dosaggio del sierozima nel sangue in esame, recalcificavo il plasma privo di sierozima con quattro volumi di una soluzione di g 9 di NaCl e di g 0,35 di $CaCl_2$ in 1000 cm^3 di acqua. Ponevo poi 1 cm^3 di plasma privo di sierozima e recalcificato in dodici provette, eccetto che nella prima nella quale mettevo 1 cm^3 del sangue in esame. Aggiungevo quindi 1 cm^3 di questo nella seconda provetta, mescolando col plasma privo di sierozima, e trasportavo 1 cm^3 di miscuglio nella terza provetta, poi 1 cm^3 del contenuto di questa nella quarta e così via, in modo da avere diluizioni di sangue crescenti secondo la progressione geometrica: 1, 2, 4, 8.... In questa progressione la ragione è sempre uguale a due. Infine dall'ultima provetta, dopo avere ben mescolato il liquido, toglievo 1 cm^3. Aggiungevo poi in tutte le provette 2 cm^3 di una soluzione di fibrinogeno (come quella utilizzata nel metodo di Wohlgemuth [12] per il dosaggio della trombina); e ponevo le provette in ghiacciaia. Dopo 24 ore ricercavo in quale provetta v'era un coagulo ancora bene apprezzabile. Posta uguale ad una unità di sierozima la quantità più piccola di esso capace di dare ancora un coagulo, il numero di unità di sierozima contenute in 1 cm^3 del sangue in esame era dato direttamente da quella diluizione del sangue che era ancora capace di dare il coagulo.

Per dosare il citozima seguii pure la tecnica indicata da Bordet e Delange (16) e da Izar e Ceruti (17). Preparavo cioè dapprima il plasma privo di citozima, diluendo 5 cm^3 di plasma ossalato con una uguale quantità di una soluzione di cloruro di sodio all'1% facendo gorgogliare subito dopo anidride carbonica per 1'. Recalcificavo poi il liquido con 4 volumi della soluzione recalcificante sopra indicata, ponevo 1 cm^3 di plasma privo di citozima e recalcificato in dodici provette, eccetto che nella prima nella quale mettevo 1 cm^3 del sangue in esame. A partire da questo punto procedevo come per la determina-

zione del sierozima. Posta uguale ad una unità di citozima la quantità più piccola di esso capace di dare un coagulo, il numero di unità di citozima contenute in 1 cm^3 del sangue in esame era dato direttamente da quella diluizione del sangue che era ancora capace di dare il coagulo.

III. — Risultati sperimentali.

Due o tre giorni dopo la paratiroidectomia si resero evidenti, nei cani da me operati, le classiche manifestazioni della tetania paratireopriva e cioè tremore, ipereccitabilità muscolare, accessi tetanici, disturbi del tubo gastro-enterico (anoressia, vomito, diarrea). La sopravvivenza degli animali all'operazione oscillò da tre a tredici giorni e fu in media di sette giorni. I cani paratiroidectomizzati e trattati con estratti di paratiroidi presentarono fenomeni di tetania più lievi che quelli non trattati. Essi sopravvissero 8-9 giorni all'intervento operatorio.

I risultati delle determinazioni del tempo di coagulazione, della trombina, del calcio, del sierozima, del citozima, del fibrinogeno e dell'antitrombina, eseguite sui cani normali, in quelli paratiroidectomizzati e in quelli trattati con estratto di paratiroidi sono riportati nella tabella.

TABELLA.

Numero sesso e peso del cane	Condizione dell'animale	Data 1931	Giorno dell'intervento	Tempo di coagulazione in minuti primi	Trombina in 100 cm³ di siero unità di trombina	Fibrinogeno in 100 cm³ di plasma g	Antitrombina tempo di coagulazione in minuti primi 0 gocce	3 gocce	5 gocce	Sierozima in 1 cm³ di sangue unità di sierozima	Citozima in 1 cm³ di sangue unità di citozima	Calcio in 100 cm³ di siero mg
I ♂	normale	17-I	—	13	128	0.31	4½	6	9	25.600	160	12.5
	paratiroidectomizzato	20-I	1	19	64	0.51	7	8	9	12.800	80	9.3
Kg 14,5	»	22-I	3	25	64	0.90	6	9	10	12.800	160	6.8
	normale	19-I	—	16	128	0.45	3	4½	6	25.600	80	10.9
II ♂	»	22-I	—	17	128	0.50	3½	5	7	25.600	80	11.2
Kg 12,3	paratiroidectomizzato	23-I	1	18	64	0.70	4	6	8½	12.800	80	8.5
	»	26-I	3	34	64	0.69	3	5½	7	12.800	80	7.1
III ♀	normale	26-I	—	12	128	0.30	3	5	8	12.800	160	12.3
	paratiroidectomizzato	30-I	4	27	64	0.60	3	5	9½	12.800	160	8.6
Kg 8,2	»	8-II	13	28	32	0.70	3½	4½	8	6.400	80	7.7
IV ♀	normale	16-II	—	20	128	0.34	2½	4	6	25.600	320	10.2
Kg 7,5	paratiroidectomizzato	24-II	6	34	64	0.78	3	4	6½	12.800	160	7.0
	normale	18-II	—	21	256	0.41	3	5	7½	12.800	160	13.0
V ♀	paratiroidectomizzato	20-II	1	35	128	0.50	3	5	7	6.400	160	9.4
Kg 25,5	»	23-II	4	33	128	0.66	3½	6	8½	6.400	160	8.5
	»	27-II	8	30	192	0.60	3	6½	8	12.800	160	8.8
	normale	23-II	—	20	128	0.31	4	7	8	25.600	160	11.6
VI ♂	paratiroidectomizzato	2-III	4	36	64	0.42	4	8	8½	12.800	80	9.1
Kg 22	»	5-III	7	40	32	0.65	3½	8	9	12.800	160	7.6
	»	7-III	9	39	64	0.64	4	7	8½	12.800	160	7.9
	normale	8-III	–	19	256	0.35	2½	3	5	25.600	160	10.9
VII ♂	paratiroidectomizzato	16-III	2	29	128	0.72	3	4	7½	12.800	160	8.5
Kg 15,4	trat. con ormone paratiroideo	17-III	3	22	256	0.83	3	3½	7	19.200	160	9.8
	»	22-III	8	21	256	0.79	3	4	7	19.200	160	9.6
	normale	12-III	–	22	128	0.37	3	3½	6	25.600	160	11.0
VIII ♂	paratiroidectomizzato	16-III	3	32	64	0.68	3	4	6½	12.800	80	8.1
Kg 25	trat. con ormone paratiroideo	18-III	5	25	64	0.77	3	3	7	25.600	160	9.9
	»	23-III	10	23	128	0.70	3	3½	7	25.600	160	9.9

I dati contenuti nella tabella dimostrano anzitutto che le paratiroidi esercitano una spiccata influenza sulla coagulazione del sangue. Tale influenza non si esplica soltanto sul tempo di coagulazione, ma anche sulla quantità di trombina, del calcio, del fibrinogeno, del sierozima e del citozima. Infatti nel cane paratiroidectomizzato il tempo di coagulazione del sangue subisce un allungamento di circa il doppio del normale; la trombina si riduce alla metà fino a un quarto; il sierozima diminuisce fino alla metà; il calcio si riduce di circa un terzo; il fibrinogeno si raddoppia; il citozima o non subisce variazioni o diminuisce fino alla metà; l'antitrombina non subisce variazioni degne di nota.

Le modificazioni della coagulazione del sangue sono evidenti talvolta già ventiquattro ore dopo la paratiroidectomia e durano poi pressochè invariate fino alla morte dell'animale. Tali modificazioni scompaiono o si attenuano in seguito alla somministrazione di un estratto di paratiroidi. Infatti l'esame della tabella dimostra che, nel cane paratiroidectomizzato e trattato con estratto di paratiroidi, il tempo di coagulazione, la trombina, il sierozima e il citozima ritornano al loro valore normale, il calcio aumenta notevolmente, senza però raggiungere la norma, il fibrinogeno e l'antitrombina non subiscono variazioni.

Tanto nei cani semplicemente paratiroidectomizzati quanto in quelli paratiroidectomizzati e trattati con estratto di paratiroidi si osserva anzitutto che il sierozima e la trombina variano parallelamente col calcio. Si osserva inoltre che tra il tempo di coagulazione da una parte e la quantità del calcio, del sierozima e della trombina dall'altra parte, sussiste nella maggioranza dei casi una relazione costante. Allorchè infatti queste sostanze diminuiscono, si allunga il tempo di coagulazione del sangue, mentre questo si abbrevia se esse aumentano.

Questi risultati sono in armonia con la dottrina di Bordet sulla coagulazione del sangue, secondo la quale teoria sia per la formazione del sierozima, sia per quella della trombina è necessaria la presenza di una determinata quantità di calcio. Essi inoltre fanno pensare che le modificazioni della coagulabilità del sangue dopo la paratiroidectomia siano in rapporto essenzialmente con le variazioni della quantità di calcio contenuto nel plasma.

L'aumento del fibrinogeno che si riscontra in tutti gli animali è probabilmente dovuto al trauma operatorio, come dimostrammo altra volta Cortese ed io (18).

IV. — Conclusioni.

1°. Nel cane paratiroidectomizzato il tempo di coagulazione del sangue subisce un allungamento di circa il doppio; la trombina si riduce alla metà fino a un quarto; il sierozima diminuisce fino alla metà; il calcio si riduce di circa un terzo; il fibrinogeno si raddoppia; il citozima o non subisce variazioni o diminuisce fino alla metà; l'antitrombina non subisce variazioni.

2°. Nel cane paratiroidectomizzato e trattato con estratto di paratiroidi il tempo di coagulazione, la trombina, il sierozima e il citozima ritornano al loro valore normale; il calcio subisce un notevole aumento senza però raggiungere la norma; il fibrinogeno e l'antitrombina non subiscono variazioni.

3°. Le modificazioni della coagulabilità del sangue dopo la paratiroidectomia sono in rapporto essenzialmente colle variazioni della quantità di calcio contenuto nel plasma.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Simpson S. e Rasmussen A. T. The effect of thyro-parathyroidectomy on the blood coagulation in the dog. « Am. J. Physiol. », XL, 148, 1916.

(2) Id. Does thyroparathyroidectomy in the dog affect the blood coagulation time? « Quart. J. Exper. Physiol. », X, 145, 1916.

(3) Dragstedt L. R. e Sudan A. C. Studies on the pathogenesis of tetany. VI. The prevention and control of parathyroid tetany by strontium. « Am. J. Physiol. », LXXVII, 307, 1926.

(4) Cantarow A., Caven W. R. e Gordon B. Changes in the chemical and physical characteristics of the blood following the administration of parathyroid hormos, with special reference to the clotting of the blood. « Arch. internat. Med. », 38, 502. 1926.

(5) Brougher J. C. Coagulation time in parathyroid tetany. « Am. J. Physiol. », LXXXVII, 221, 1928.

(6) Kottmann K. e Lipsky J. Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Schilddrüse. « Zeitschr. f. Klin. Med. », 71, 344, 1910.

(7) Gray M. Caracter of the blood clot in the thyroidectomized adult opossum. « Am. J. Physiol. », 68, 149, 1924.

(8) Ichikawa K. e Sasaki. Uber die Beziehung zwischen der Blutgerinnungszeit der Fibrinogengehalt des Blutplasmas und der Schilddrüse. « Fol. endocr. jap. », 3, 825, 1927; « Ber. Physiol. », 44, 85, 1928.

(9) Comel M. Studi sulla sindrome paratireopriva in cani trattati con stronzio. « Arch. di Fisiologia », XXIX, 159, 1930.

(10) Feissly R. Dispositif pour la mesure de la vitesse et de la marche de la coagulation sanguine. « Comptes Rendus de la Soc. de Biol. », 97, 467. 1927.

(11) Wohlgemuth J. Methode für quantitativen bestimmung des Fibrinferments. « Grund. d. Fermentmethoden ». Berlin, 320, 1913.

(12) Foster D. P. e Whipple G. H. Blood fibrin studies. I. An. accurate method for the quantitative analysis of blood fibrin in small amounts of blood. « Am. J. Physiol. », 58, 365, 1922.

(13) Hess A. F. A test for the antithrombin in the blood. « Journ. of exper. med. », 21, 338, 1915.

(14) Livraga P. Influenza del sistema nervoso autonomo sulla coagulazione del sangue. « Arch. di Fisiol. », XXX, 189, 1931.

(15) Kramer B. e Tisdall F. F. A Simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. « Journ. Biolog. Chem. », 47, 475, 1921.

(16) Bordet J. e Delage L. Récherches sur la coagulation du sang. « Annales Inst. Pasteur », 26, 657 e 737, 1912.

(17) Izar G. e Ceruti R. Ricerche sulla coagulazione sanguigna. « Biochimica e terapia sperimentale », VI, 259, 1919.

(18) Ferrari R. e Cortese F. Influenza del pancreas sulla coagulazione del sangue. « Bollettino della Società Italiana di Biologia sperimentale », VI, 567, 1931.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia.*

Vol. XXXI° — Fasc. 2°

INFLUENZA DELLE PROTEINE DEL SANGUE SULLA SCOMPARSA DELL'EDEMA NELLA RANA SALATA.

Dott. Rodolfo Ferrari
Aiuto.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione e tecnica.

Nella preparazione della rana salata, come aveva già notato Gayda (1) osservai sempre che la sostituzione del sangue dell'animale con una soluzione salina è seguita immediatamente da un edema, che però scompare nello spazio di qualche giorno. Ora, poichè Gayda (2) dimostrò che l'edema da perfusione con soluzioni saline si può impedire aggiungendo al liquido di perfusione dei colloidi, pensai che la scomparsa graduale dell'edema nella rana salata fosse dovuta alla penetrazione di proteine in circolo. Per accertare se ciò corrisponde veramente alla realtà, mi proposi di esaminare se in questo animale vi sia qualche rapporto fra la diminuzione dell'intensità dell'edema e la quantità di proteine contenute nel sangue.

Eseguii i miei esperimenti su 10 rane salate, delle quali determinavo il peso prima e subito dopo la perfusione e, successivamente, a distanza di tempo, altre 5 o 6 volte fino alla scomparsa completa dell'edema. Contemporaneamente determinavo la quantità dell'azoto proteico del sangue.

Come liquido di perfusione per la salatura adoperai il liquido di Ringer-Locke per mammifero, diluito con mezzo volume di acqua distillata per renderlo isotonico al sangue di rana. Seguivo nella perfusione la tecnica indicata da Gayda (1) e da me utilizzata in numerose ricerche precedenti.

Determinavo poi la quantità dell'N proteico del sangue col micrometodo di Kjeldahl, proposto da Bang (3).

Raccoglievo il sangue dalla rana salata, tagliando uno o due dita e imbevendo del liquido, che usciva dalla ferita, una delle apposite car-

tine. Ponevo quindi questa ultima nella soluzione di acido fosfomolibdico per estrarne l'azoto residuo e procedevo infine all'ossidazione trattando direttamente la cartina con acido solforico.

Poichè nei primi giorni dopo la perfusione il numero dei corpuscoli del sangue nella rana salata non supera la centesima o la cinquantesima parte del numero normale e non ha tendenza sensibile a crescere, le proteine dei corpuscoli si potevano considerare come trascurabili di fronte a quelle del plasma, cosicchè appariva giustificato riferire unicamente a queste ultime i risultati delle analisi.

L'ammoniaca distillata non era determinata titolimetricamente, come prescrive il metodo Bang, ma colorimetricamente, mediante il reattivo di Nessler, preparato secondo il metodo di Folin (4). Preparavo il liquido di controllo aggiungendo a 10 cm^3 di una soluzione titolata di solfato d'ammonio, contenente 1 mg di N, 10 cm^3 di liquido di Nessler e portando il tutto a 100 cm^3 con acqua distillata. Confrontavo col colore di questo liquido quello del distillato dopo di avergli parimenti aggiunto 10 cm^3 di liquido di Nessler ed avere portato il tutto a 100 cm^3 con acqua distillata.

Quando la quantità delle proteine del sangue era molto piccola, per rendere possibile la determinazione colorimetrica aggiungevo al distillato una quantità nota della soluzione titolata di solfato di ammonio.

Dai valori dell'N proteico del sangue calcolavo la quantità di proteine moltiplicandoli per il noto fattore 6,25.

II. — Risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti sono prospettati nella tabella.

TABELLA.

Numero sesso e peso della rana	Data 1930	Numero dell'esperimento	Ore dalla Perfusione	PESO DELLA RANA			N proteico in 100 g di sangue g	Proteine in 100 g di sangue g
				Dopo la Perfusione	Variazione			
					g	%		
I ♂ 36,73 g	15 - II	I	1/4	51.73	+15	+40.8	0.049	0.366
	15 - II	II	7	49.43	+12.7	+34.5	0.138	0.862
	16 - II	III	29	40.39	+3.66	+9.9	0.253	1.581
	17 - II	IV	60	39.23	+2.50	—6.8	0.278	1.737
	18 - II	V	82	36.70	−0.03	—0.08	0.374	2.337
II ♀ 30,84 g	16 - II	I	1/4	44.83	+13.99	+45.3	0.014	0.087
	17 - II	II	19	37.48	+7.64	+24.7	0.216	1.350
	18 - II	III	40	33.95	+3.11	+10.08	0.236	1.475
	19 - II	IV	72	30.89	+0.05	—0.16	0.354	2.212
	22 - II	V	145	30.74	−0.10	—0.3	0.385	2.406
III ♀ 34,73 g	16 - II	I	1/4	49.01	+14.28	+41.01	0.024	0.150
	17 - II	II	19	44.53	+9.80	+28.1	0.261	1.631
	18 - II	III	42	40.08	+5.35	+15.4	0.271	1.693
	19 - II	IV	71	37.68	+2.95	—8.5	0.340	2.125
	20 - II	V	95	34.70	—0.03	−0.08	0.375	2.343
IV ♂ 32,11 g	19 - II	I	1/4	46.50	+14.39	+44.8	0.038	0.237
	20 - II	II	31	36.03	+3.92	+12.2	0.147	0.918
	21 - II	III	61	35.18	+3.07	+9.5	0.233	1.456
	22 - II	IV	80	32.11	+0	+0	0.342	2.137
	24 - II	V	121	32.00	—0.11	−0.3	0.367	2.294
V ♀ 24,73 g	19 - II	I	1/4	34.85	+10.12	+40.9	0.042	0.262
	20 - II	II	30	33.33	+8.60	+34.7	0.167	1.043
	21 - II	III	54	28.57	+4.84	+19.3	0.273	6.706
	22 - II	IV	80	24.75	+0.02	+0.08	0.381	2.381
	24 - II	V	126	24.61	—0.12	—0.5	0.354	2.212

TABELLA (*continuazione*).

Numero sesso e peso della rana	Data 1930	Numero dell'esperimento	Ore dalla Perfusione	PESO DELLA RANA			N proteico in 100 g di sangue	Proteine in in 100 g di sangue
				Dopo la Perfusione	Variazione			
					g	%	g	
VI ♂ 27,60 g	20 - II	I	1/4	40.28	+13.68	+49.9	0.030	0.187
	21 - II	II	26	36.13	+8.73	+31.6	0.181	1.021
	22 - II	III	56	29.56	+1.96	+7.1	0.243	1.518
	23 - II	IV	74	28.08	+0.48	+1.7	0.376	2.350
	25 - II	V	113	27.50	−0.10	−0.3	0.409	2.556
VII ♂ 32,33 g	25 - II	I	1/4	47.23	+14.90	+46.0	0.040	0.250
	26 - II	II	24	43.78	+11.45	+35.4	0.097	0.606
	27 - II	III	45	37.35	+5.02	+15.5	0.221	1.381
	28 - II	IV	70	32.63	+0.30	+0.9	0.390	2.437
	2 - III	V	116	32.24	−0.09	−0.2	0.385	2.406
VIII ♀ 27,53 g	25 - II	I	1/4	41.28	+13.75	+49.9	0.014	0.087
	26 - II	II	21	36.63	+8.10	+29.4	0.187	1.168
	27 - II	III	47	32.30	+4.77	+17.3	0.255	1.593
	28 - II	IV	72	28.10	+0.57	+2.06	0.350	2.187
	2 - III	V	119	27.42	−0.11	−0.3	0.358	2.237
IX ♀ 22,71 g	25 - II	I	1/4	33.73	+11.02	+48.4	0.048	0.300
	26 - II	II	25	31.93	+9.22	+40.6	0.163	1.018
	27 - II	III	48	26.44	+3.73	+16.3	0.294	1.838
	28 - II	IV	66	23.15	+0.44	+1.9	0.366	2.287
	2 - III	V	112	22.61	−0.10	−0.4	0.372	2.325
X ♀ 51,43 g	1 - III	I	1/4	72.66	+21.23	+41.2	0.046	0.287
	2 - III	II	22	63.00	+11.57	+22.4	0.207	1.294
	3 - III	III	50	58.49	+7.06	+13.07	0.247	1.544
	4 - III	IV	76	53.20	+2.67	+5.1	0.394	2.462
	6 - III	V	123	51.40	−0.03	−0.05	0.401	2.506

Dall'esame di questa tabella si rileva anzitutto che l'aumento percentuale che subisce il peso della rana salata, per effetto dell'edema, oscilla fra il 40,8% ed il 49,9% ed è uguale in media al 44,8%. Tale edema è massimo subito dopo la perfusione, va diminuendo gradualmente in seguito fino a scomparire nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento.

La quantità di proteine contenuta in 100 g di sangue della rana salata, subito dopo la perfusione, oscilla fra g 0,087 e g 0,306 ed è uguale in media a g 0,203. Tale quantità aumenta in seguito gradualmente fino a raggiungere il valore normale (2,54% secondo HALLIBURTON) nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento.

Tra la diminuzione dell'edema e l'aumento delle proteine del sangue sussiste una reazione costante. Infatti l'edema ha una intensità massima, quando la quantità di proteine del plasma è minima, diminuisce in seguito quando tale quantità aumenta e scompare completamente, quando essa ha raggiunto il suo valore normale.

I fatti da me osservati mettono dunque in rilievo la parte sostenuta dalle proteine del sangue nella scomparsa dell'edema nella rana salata; essi confermano inoltre l'importanza che hanno, secondo GAYDA, i colloidi nel liquido circolante nell'impedire l'edema da perfusione con soluzioni saline.

BIBLIOGRAFIA.

(1) GAYDA T. La produzione di calore nella rana in diverse condizioni sperimentali. Nota II. Ricerche sulla rana salata. « Archivio di Scienze Biologiche », II, 333, 1921.

(2) GAYDA T. Sull'edema da perfusione con soluzioni saline. « Archivio per le Scienze Mediche », XXXIX, 389, 1916.

(3) BANG I. Mikromethoden zur Blutuntersuchung. München, 1927.

(4) FOLIN O. Laboratory manual of biological chemistry. New York, 1925.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*
Vol. XXXI° — Fasc. 2°

FORMAZIONE TARDIVA DI EDEMA NELLA RANA SALATA DOPO PERFUSIONE CON LIQUIDI IPERTONICI.

Dott. Rodolfo Ferrari
Aiuto.

(Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda).

I. — Introduzione.

In alcune ricerche precedenti sulla influenza che le proteine del sangue esercitano sulla scomparsa dell'edema nella rana salata (1) osservai anzitutto che l'aumento percentuale che subisce il peso della rana salata, per effetto dell'edema, oscilla tra il 40,8% e il 49,9% ed è uguale in media al 44,8%. Tale edema è massimo subito dopo la perfusione, va diminuendo gradualmente in seguito fino a scomparire nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento. Osservai inoltre che la quantità di proteine contenuta in 100 g di sangue della rana salata, subito dopo la perfusione, oscilla fra g 0,087 e g 0,306 ed è uguale in media a g 0,203. Tale quantità aumenta in seguito gradualmente fino a raggiungere il valore normale (2,54% secondo Halliburton) nello spazio di 80-145 ore dopo l'intervento. Tra la diminuzione dell'edema e l'aumento delle proteine del sangue sussiste dunque una relazione costante. Infatti l'edema ha una intensità massima quando la quantità di proteine del plasma è minima, diminuisce in seguito quando tale quantità aumenta e scompare completamente quando essa ha raggiunto il suo valore normale.

Questi fatti mettono in rilievo la parte sostenuta dalle proteine del sangue nella scomparsa dell'edema dalla rana saata e confermano l'importanza che hanno, secondo Gayda (2), i colloidi nel liquido circolante nell'impedire l'edema da perfusione con soluzioni saline.

In continuazione di queste mie ricerche mi proposi di studiare nella rana salata il comportamento dell'edema allorchè si pratichi la perfusione con un liquido di Ringer ipertonico rispetto al siero di sangue dell'animale.

II. — Tecnica.

Eseguii i miei esperimenti sulla *Rana* esculenta, adoperando come liquido di perfusione per la salatura liquido di Ringer fortemente ipertonico rispetto al siero di sangue di rana (6/5 di quello per mammifero) e seguendo la solita tecnica indicata da Gayda (3). Di ogni animale determinavo il peso prima e subito dopo la perfusione. Ponevo quindi gli animali in recipienti di vetro, in cui cambiavo l'acqua di frequente, e tornavo a pesarli successivamente a varia distanza di tempo, altre cinque o sei volte. Come ricerca collaterale determinavo contemporaneamente l'N proteico del sangue col micrometodo di Kjeldahl proposto da Bang, seguendo le modalità già riferite nella mia nota precedente (1).

III. — Risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti sono riportati nella tabella.

TABELLA.

Numero sesso e peso della rana	Data 1930	Numero dell'esperimento	Ore dalla Perfusione	PESO DELLA RANA			N proteico in 100 g di sangue	Proteine in 100 g di sangue
				Dopo la Perfusione	Variazione			
					g	%		
	11 marzo	I	1/4	35.66	+0.63	+ 1.8	0.088	0.550
	»	II	1	37.53	+2.50	+ 7.1	—	—
	»	III	2	39.19	+4.16	+11.8	—	—
I ♀	»	IV	5	40.73	+5.70	+16.2	—	—
	»	V	8	39.23	+4.20	+11.9	—	—
35,03 g	»	VI	11	37.78	+2.75	+ 7.8	0.150	0.937
	12 marzo	VII	36	35.89	+0.86	+ 2.4	0.408	2.450
	»	VIII	40	35.00	−0.03	−0.08	—	—
	»	IX	47	34.86	−0·17	− 0.4	0.442	2.537
	13 marzo	X	61	34.82	− 0.21	− 0.5	0.381	2.381
	12 marzo	I	1/4	39.08	+0.25	+0.64	0.079	0.493
	»	II	3	43.73	+4.90	+12.6	—	—
	»	III	5	45.00	+6.17	+15.6	0.170	1.052
	»	IV	10	45.53	+6.70	+17.2	0.220	1.375
II ♀	13 marzo	V	24	43.53	+4.70	+12.1	—	—
	»	VI	30	43.34	+4.51	+11.5	—	—
38,83 g	»	VII	34	42.86	+4.03	+10.3	0.295	1.843
	14 marzo	VIII	48	39.00	+0.17	+ 0.4	0.311	2.043
	»	IX	58	38.80	− 0.03	−0.07	—	—
	15 marzo	X	72	38.75	−0.08	− 0.2	0.304	1.900
	12 marzo	I	1/4	36.58	+0.35	+0.96	0.091	0·568
	»	II	3	39.05	+2.82	+ 7.7	—	—
	»	III	8	42.85	+6.62	+18.3	—	—
III ♀	13 marzo	IV	17	41.93	+5.70	+15.7	0.153	0.946
	»	V	23	38.02	+1.79	+ 4.6	—	—
36,23 g	»	VI	26	36.74	+0.51	+ 1.4	0.383	2.393
	»	VII	55	36.18	−0.05	− 0.1	0.443	2.668
	14 marzo	VIII	65	36.14	−0.09	− 0.2	0.389	2.431
	12 marzo	I	1/4	34.18	−0.10	−0.29	0.050	0.312
	»	II	3	36.50	+2.22	+ 6.4	—	—
	13 marzo	III	16	39.73	+5.45	+15.8	0.154	0.962
IV ♂	»	IV	22	40.45	+6.17	+17.9	—	—
	»	V	30	37.38	+3.10	+ 9.0	—	—
34,28 g	14 marzo	VI	43	35.40	+1.12	+ 3.2	0.354	2.212
	»	VII	52	34.25	−0.03	−0.08	0.380	2.275
	15 marzo	VIII	77	34.19	−0.09	− 0.2	0.347	2.170
	13 marzo	I	1/4	35.79	−0.15	−0.41	0.052	0.343
	»	II	1	36.92	+0.98	+ 2.7	—	—
	»	III	5	40.91	+5.02	+13.9	—	—
	14 marzo	IV	15	41.76	+5.82	+16.1	—	—
V ♀	»	V	17	40.32	+4.38	+12.1	0.153	0.956
	»	VI	24	38.82	+2.88	+ 8.0	—	—
35,94 g	15 marzo	VII	39	38.72	+2.78	+ 7.8	—	—
	»	VIII	45	36.51	+1.57	+ 4.3	0.279	1.743
	16 marzo	IX	61	35.88	−0.06	− 0.1	0.286	1.787
	»	X	70	35.82	−0.12	− 0.3	0.295	1.842

Tabella (*continuazione*).

Numero sesso e peso della rana	Data 1930	Numero dell'esperimento	Ore dalla Perfusione	PESO DELLA RANA			N. proteico in 100 g di sangue	Proteine in 100 g di sangue
				Dopo la Perfusione	Variazione			
					g	%		
VI ♂ 27,74 g	14 marzo	I	1/4	27.91	+0.17	+ 0.6	0.067	0.420
	»	II	2	29.15	+1.41	+ 3.9	—	—
	»	III	8	32.79	+5.05	+18.2	0.137	0.858
	15 marzo	IV	17	31.84	+4.10	+14.7	—	—
	»	V	21	37.74	+4.00	+14.3	0.208	1.302
	»	VI	28	29.90	+2.16	+ 7.7	—	—
	16 marzo	VII	43	28.50	+0.76	+ 2.7	0.450	2.814
	»	VIII	52	27.69	+0.05	+ 0.1	—	—
	17 marzo	IX	64	26.60	—0.14	- 0.5	0.416	2.604
VII ♂ 29,81 g	14 marzo	I	1/4	29.76	—0.05	— 0.1	0.083	0.504
	»	II	2	32.66	+3.85	+12.9	—	—
	»	III	8	36.29	+6.38	+21.3	0.154	0.966
	15 marzo	IV	17	35.74	+5.93	+19.8	—	—
	»	V	20	34.30	+4.49	+15.0	0.231	1.440
	»	VI	27	33.44	+3.53	+11.8	—	—
	16 marzo	VII	42	32.17	+2.36	+ 7.9	—	—
	»	VIII	48	30.10	+0.29	+ 0.9	0.487	2.246
	»	IX	52	29.76	—0.05	— 0.1	—	—
	17 marzo	X	63	29.65	—0.16	— 0.5	0.432	2.700
VIII ♀ 36,61 g	14 marzo	I	1/4	36.70	+0.09	+ 0.2	0.060	0.378
	»	II	3	39.07	+2.46	+ 6.7	—	—
	»	III	7	43.85	+7.24	+19.7	0.175	1.098
	15 marzo	IV	16	43.14	+6.53	+17.8	—	—
	»	V	19	41.79	+5.18	+14.1	—	—
	»	VI	26	41.04	+4.43	+12.1	0.376	2.352
	16 marzo	VII	41	38.74	+2.13	+ 5.8	—	—
	»	VIII	45	36.77	+0.16	+ 0.4	—	—
	»	IX	51	36.55	—0.06	— 0.1	0.480	3.006
	17 marzo	X	64	36.48	—0.13	— 0.3	0.451	2.820
IX ♂ 24,51 g	14 marzo	I	1/4	24.92	+0.41	+ 1.6	0.072	0.450
	»	II	2	27.09	+2.58	+10.4	—	—
	»	III	5	30.29	+5.78	+23.5	0.144	0.900
	15 marzo	IV	14	29.39	+4.88	+19.8	—	—
	»	V	17	29.24	+4.73	+19.3	0.279	1.746
	»	VI	24	28.54	+4.03	+16.4	—	—
	16 marzo	VII	39	27.24	+2.73	+11.1	—	—
	»	VIII	46	25.29	+0.78	+ 2.9	0.441	2.760
	17 marzo	IX	62	24.36	—0.15	- 0.6	0.451	2.820
X ♂ 24,89 g	14 marzo	I	1/4	24.81	—0.08	— 0.3	0.062	0.390
	»	II	4	29.46	+4.51	+18.1	0.115	0.702
	15 marzo	III	13	28.04	+3.15	+12.7	—	—
	»	IV	16	27.01	+2.12	+ 8.4	0.307	1.920
	»	V	23	26.94	+2.05	+ 8.2	—	—
	16 marzo	VI	44	25.91	+1·02	+ 4.1	0.484	3.030
	»	VII	50	24.81	—0.09	— 0.3	—	—
	17 marzo	VIII	63	24.52	—0.27	— 1.0	0.422	2.640

I dati contenuti in questa tabella confermano anzitutto i risultati ottenuti precedentemente da GAYDA nelle sue ricerche sull'edema da perfusione con soluzioni saline. Se si pratica cioè la perfusione di una rana con un liquido di Ringer ipertonico (6/5 di quello per mammifero) rispetto al siero di sangue dell'animale, non solo non si produce edema, ma si determina talvolta una lieve diminuzione del peso dell'animale.

Se poi la rana così perfusa viene posta dopo l'intervento in acqua comune, presenta un edema che va gradatamente aumentando d'intensità fino a raggiungere un massimo circa 9 ore dopo la perfusione. L'edema va poi diminuendo gradatamente fino a scomparire nello spazio di 40-60 ore dopo l'intervento. L'aumento percentuale, che subisce il peso della rana quando l'edema è massimo, oscilla tra il 16,1% e il 23,5% ed è uguale in media al 18,6%.

Il modo di comportarsi dell'edema nella rana perfusa con liquido di Ringer fortemente ipertonico è dunque ben diverso da quello che si verifica nella rana perfusa con liquido di Ringer isotonico al suo sangue.

La quantità di proteine contenuta in 100 g di sangue della rana salata, subito dopo la perfusione eseguita col liquido di Ringer ipertonico, oscilla tra g 0,312 e g 0,568. Tale quantità aumenta in seguito gradualmente fino a raggiungere il suo valore normale nello spazio di 47-61 ore, cioè nello stesso spazio di tempo in cui l'edema che si era formato torna a scomparire. Le proteine del sangue nella rana perfusa con liquido di Ringer ipertonico si comportano dunque presso a poco come nella rana perfusa con liquido di Ringer isotonico.

Di fronte a questi risultati si deve ammettere che nella rana perfusa con liquido di Ringer ipertonico il comportamento dell'edema dopo la perfusione non dipende solo dalle proteine del sangue, ma deve essere in rapporto anche con altri fattori.

L'assenza dell'edema subito dopo la perfusione, benchè le proteine del sangue siano in quantità molto piccola, è dovuta al fatto che nei vasi circola un liquido fortemente ipertonico, in cui secondo GAYDA (2) la pressione osmotica compensa perfettamente, per quanto riguarda l'edema, la minore quantità di proteine contenutevi.

La comparsa dell'edema nella rana salata, dopo l'immersione nell'acqua, si può attribuire verosimilmente al passaggio di acqua dall'esterno nei liquidi dell'organismo fortemente ipertonici. Tale passaggio è reso possibile dalle condizioni di permeabilità della cute della rana dimostrate dalle ricerche di OVERTON (4). L'acqua pene-

trata nei liquidi dell'organismo li diluisce fino a renderli isotonici al sangue normale di rana e viene a porre l'animale nelle stesse condizioni nelle quali si troverebbe se fosse stato perfuso con liquido di Ringer isotonico. Si ha perciò insorgenza dell'edema.

La successiva scomparsa dell'edema si può spiegare poi col ritorno della quantità delle proteine del sangue al suo valore normale, analogamente a quanto si verifica nella rana perfusa con liquido di Ringer isotonico.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Ferrari R. Influenza delle proteine del sangue sulla scomparsa dell'edema nella rana salata. « Archivio di Fisiologia », Vol. XXXI, fasc. 2, 208, 1932.

(2) Gayda T. Sull'edema da perfusione con soluzioni saline. « Archivio per le Scienze Mediche », XXXIX, 389, 1916.

(3) Gayda T. La produzione di calore nella rana in diverse condizioni sperimentali. Nota II. Ricerche sulla rana salata. « Archivio di Scienze Biologiche », II, 333, 1921.

(4) Overton E. 39 Thesen über die Wasserökonomie der Amphibien und die osmotischen Eigenschaften der Amphibienhaut. « Verhandl. d. phys. med. Ges. zu Würzburg ». XXXVI, 227, 1904.

RICERCHE SULLA FORMAZIONE DELLA EMOGLOBINA NELLA RANA SALATA - Nota I. Azione della emoglobina e di alcuni suoi derivati (ematina, ematoporfirina, ferropirrolo, pirrolo e ferro).

RODOLFO FERRARI.

(*Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia*)

I. - INTRODUZIONE.

Come è noto (1, 2) nella rana salata si riscontra una anemia di gran lunga superiore per intensità ad ogni altra finora nota sperimentalmente, la quale dura quasi immutata per parecchi mesi dopo la perfusione, senza che l'animale differisca nelle sue manifestazioni vitali dalla rana normale. Il numero degli eritrociti diminuisce da 400.000 per mm^3 di sangue a 3000-6000 e non subisce in seguito che un lieve aumento; la quantità di emoglobina diminuisce da 9-11 g per 100 cm^3 di sangue fino ad essere indosabile e si mantiene tale per lunghissimo tempo. La costituzione morfologica del sangue e degli organi ematopoietici della rana salata è essenzialmente caratterizzata dalla presenza in circolo di numerosissime forme profondamente immature della serie eritrocitaria (proeritroblasti, eritroblasti basofili e policromatofili), da un processo di attivissima proliferazione del sistema eritropoietico nel midollo delle ossa, nella milza e nel fegato e da un arresto del processo evolutivo delle cellule eritroblastiche. I fatti osservati si possono spiegare pensando che l'organismo digiunante, in seguito alla perfusione, non sia più in grado di compiere la sintesi della emoglobina come in condizioni normali. Infatti l'organismo, non avendo più a disposizione i materiali provenienti dagli alimenti, si trova nella necessità di dover ricostruire interamente la molecola emoglobinica a spese dei propri tessuti. In queste condizioni la emoglobina si forma in quantità trascurabile, senza che sia possibile dire se ciò dipenda da incapacità

dell'organismo a sintetizzare l'emoglobina partendo dalle sostanze più semplici o da mancanza di queste.

Di fronte a questi fatti mi proposi di stabilire se, nella rana salata, la formazione della emoglobina è influenzata dalla somministrazione della emoglobina stessa o da quella dei suoi derivati.

Se si prendono in considerazione le ricerche finora eseguite sulla formazione dell'emoglobina nell'organismo si rileva che alla risoluzione del problema osta soprattutto il fatto che, essendo ignote le condizioni che normalmente regolano la formazione della emoglobina, non è possibile stabilire se un eventuale aumento di essa sia dovuto a più favorevoli condizioni alla sua formazione o non piuttosto a maggiore disponibilità delle varie sostanze che entrano nella costituzione della emoglobina.

Recentemente Whipple e Robscheit-Robbins (3, 7) ritennero di poter risolvere il problema della formazione dell'emoglobina sottoponendo il cane a quello che essi chiamano « stimolo massimo costante alla formazione dell'emoglobina ». A questo scopo essi praticavano periodicamente al cane salassi in modo da mantenere sempre la quantità della emoglobina del sangue ad un terzo del suo valore normale ed in modo da esaurire l'eventuale riserva nell'organismo dei materiali formatori della emoglobina. Alimentando l'animale con una dieta basale, sufficiente per mantenerlo in vita, gli Autori osservarono che la quantità della emoglobina che rigenerava in un dato periodo di tempo era praticamente costante e che tale quantità aumentava sempre col variare della dieta. Così una dieta di 400 g di fegato al giorno, somministrata per un periodo di due settimane, determinò il massimo aumento della quantità di emoglobina in confronto con altre diete. L'aumento di emoglobina che si riscontra in seguito alle varie diete è da attribuirsi, secondo gli Autori, all'apporto esclusivo di sostanze che entrano nella costituzione della emoglobina. Le ricerche per stabilire quali siano queste sostanze sono tuttora in corso.

Se si esaminano però i protocolli degli esperimenti di Whipple e Robscheit-Robbins, si rileva anzitutto, come già osservò lo Zoja (8), che nel cane anemizzato e alimentato con varie diete l'aumento che subisce la quantità di emoglobina si accompagna sempre ad un aumento della massa totale del sangue e delle proteine del plasma. Perciò negli esperimenti di Whipple e Robscheit-Robbins non è soltanto la emoglobina che si forma per sintesi dagli elementi più adatti, ma anche ogni altra sostanza indispensabile all'organismo.

Inoltre, poichè lo stimolo alla formazione della emoglobina, come dimostrò lo stesso Whipple (5), è inversamente proporzionale alla quantità della emoglobina del sangue, si deve ammettere che nella rana salata, in cui la quantità della emoglobina indosabile coi comuni metodi colorimetrici, tale stimolo sia veramente massimo. Ciò è avvalorato per altro dai reperti istologici che dimostrano la iperplasia generalizzata del tessuto eritropoietico. Lo stimolo in questione, nella rana salata, è poi anche praticamente costante, poichè la quantità della emoglobina rimane indosabile per lunghissimo tempo dopo l'intervento.

Un altro vantaggio notevole che presenta la rana salata, in confronto con gli animali a sangue caldo per quanto riguarda lo studio della formazione della emoglobina, è quello di poter sopportare il digiuno prolungato per parecchi mesi. Ma il fatto che soprattutto deve essere rilevato è che, come dimostrai in alcune ricerche precedenti (9), l'esame citologico del sangue della rana salata può rilevare direttamente la formazione della emoglobina, prima ancora che questa possa essere dosata coi comuni metodi di determinazione colorimetrica. Io constatai infatti che nelle cellule eritroblastiche della rana, analogamente a quanto Villa (10, 11) osservò nei megaloblasti e negli eritroblasti dell'uomo, l'emoglobina si forma nell'interno del nucleo e si diffonde successivamente al protoplasma. La diffusione si inizia in forma di alone perinucleare acidofilo (alone perinucleare di Schilling), dà luogo in seguito al fenomeno della policromatofilia del protoplasma ed è completa allorchè tutto il protoplasma è divenuto uniformemente acidofilo. Perciò, poichè nel sangue della rana salata circolano quasi esclusivamente eritroblasti immaturi dal protoplasma estremamente povero di emoglobina, è facile mediante il solo esame istologico cogliere il minimo accenno alla neoformazione dell'emoglobina.

II. - Tecnica.

Il piano dei miei esperimenti consisteva nel determinare anzitutto nella rana normale il numero degli eritrociti, la quantità della emoglobina e la formula eritrocitaria del sangue. Sottoponevo poi l'animale alla perfusione e, dopo qualche giorno, cominciavo a iniettargli, nei sacchi linfatici ventrali, piccole quantità di emoglobina o ematina o ematoporfirina o ferropirrolo o pirrolo o ci-

trato di ferro ammoniacale. Ripetevo poi le iniezioni di queste sostanze, a varia distanza di tempo dalla perfusione, per un periodo che poteva giungere fino a parecchi mesi, praticando contemporaneamente anche gli esami del sangue. In alcune rane salate tenute di controllo iniettavo, anzichè la emoglobina o i suoi derivati, una uguale quantità del liquido in cui queste sostanze erano state sciolte. sciolte.

Eseguii tutti gli esperimenti sulla *Rana esculenta*.

Praticai la perfusione seguendo la tecnica indicata da Gayda (2) e da me utilizzata in altre ricerche precedenti.

Eseguii il conteggio dei corpuscoli del sangue con l'apparecchio di Buerker. Secondo lo stato di diluizione del sangue, il campione di sangue veniva adoperato senz'altro per il conteggio, oppure veniva diluito prima convenientemente con una soluzione di cloruro di sodio al 3 %, mediante le solite pipette.

Determinavo la quantità di emoglobina del sangue, coll'apparecchio di Fleisch modificato da Miescher. Quando la quantità di emoglobina era così piccola che non si poteva dosare facendo uso delle comuni pipette, aspiravo il sangue in una pipetta graduata da 0,1 cm^3 e lo diluivo solo 20-40 volte (anzichè 200-400 volte) colla soluzione di carbonato sodico in una capsulina di vetro.

Per colorare gli strisci di sangue seguivo il metodo May-Grünwald-Giemsa.

Il sangue per gli strisci, i conteggi e il dosaggio della emoglobina era ottenuto tagliando uno o due dita della zampa della rana. Per impedire che il sangue coagulasse mettevo sulla ferita qualche cristallino di ossalato di potassio. Allorchè uccidevo la rana prendevo il sangue direttamente dal cuore.

Eseguii i miei esperimenti complessivamente su 41 rane salate.

In un primo gruppo di otto rane, di cui tre furono tenute di controllo, praticai le iniezioni di emoglobina. La quantità complessiva della emoglobina iniettata in ogni animale oscillò da 2 a 5 cm^3 di una soluzione contenente il 6 % fino al 10 % di emoglobina. La emoglobina da iniettare era preparata ogni volta dal sangue di alcune rane, i cui eritrociti, lavati con la soluzione isotonica di cloruro di sodio, venivano emolizzati con acqua distillata o con una soluzione di carbonato di sodio all'1 ‰. Gli stromi degli eritrociti erano poi separati per centrifugazione dalla soluzione di emoglobina.

In un secondo e in un terzo gruppo costituito ciascuno di sette rane salate, di cui due furono tenute di controllo, eseguii comples-

sivamente e rispettivamente otto iniezioni di ematina e otto di ematoporfirina. Tali sostanze erano sciolte nella concentrazione dell'1 % in una soluzione di carbonato sodico pure all'1 %. Ogni volta iniettavo 0,25 cm^3 della soluzione.

In un quarto gruppo di sei rane salate, di cui due furono tenute di controllo, praticai in ciascun animale otto iniezioni di 0,25 cm^3 ciascuna di una soluzione di ferropirrolo all'1 %.

In un quinto gruppo di sette rane, salate, di cui tre furono tenute di controllo, eseguii pure in ogni rana otto iniezioni di 0,25 cm^3 ciascuna di una soluzione di pirrolo all'1 %. Tale soluzione mi fu cortesemente ceduta dal Prof. Bernardo Oddo, direttore dell'Istituto di Chimica farmaceutica della R. Università di Pavia, che vivamente ringrazio.

Infine in un sesto gruppo di sei rane salate, di cui due furono tenute di controllo, praticai in ogni animale otto iniezioni, sempre di 0,25 cm^3 ciascuna, di una soluzione di citrato di ferro ammoniacale all'1 %.

III. - Risultati sperimentali.

I risultati delle determinazioni del numero degli eritrociti, della quantità di emoglobina e della formula eritrocitaria del sangue, nelle rane salate e trattate con emoglobina, o ematina, o ematoporfirina, o ferropirrolo, o pirrolo, o citrato di ferro ammoniacale, sono prospettati nelle tabelle I-VI.

Ai risultati contenuti in queste tabelle debbo aggiungere alcune osservazioni fatte all'autopsia degli animali in esperimento. Mentre all'autopsia delle rane salate di controllo, come avevo già osservato in alcune ricerche precedenti, constatai sempre che il sangue era incoloro e limpido od appena opalescente, e che tutti gli organi o tessuti, ad eccezione della milza, sempre vivacemente rossa, erano estremamente pallidi, all'autopsia delle rane salate e trattate con emoglobina notai, già alcuni giorni dopo l'inizio del trattamento, che il sangue aveva assunto una netta colorazione rossa, la quale era evidente anche in ogni organo e tessuto e del resto era visibile pure nelle dita. Fra tutti gli organi risaltava poi in modo particolare l'intestino tenue, il quale, a differenza di quanto si verificava nelle rane salate di controllo, appariva sempre iniet-

tato da una grande quantità di pigmenti biliari, che gli impartivano un colore giallo-brunastro, o, più spesso, verde-smeraldo.

All'autopsia delle rane salate e trattate con ematina o con ematoporfirina osservai che il sangue presentava una colorazione rosa o brunastra, diffusa anche ai vari organi o tessuti. Spesso però la milza era vivacemente rossa e molto ingrandita. Le variazioni della colorazione del sangue osservate in queste rane non raggiunsero però mai l'intensità di quelle riscontrate nelle rane trattate con emoglobina.

Nelle rane salate e trattate con ferropirrolo o pirrolo o citrato di ferro ammoniacale l'autopsia non dimostrò modificazioni degne di nota in confronto con le rane salate di controllo.

I dati contenuti nelle tabelle I-VI confermano quelli ottenuti precedentemente da Gayda e da me nella rana salata. Mentre infatti il numero degli eritrociti nelle rane normali è in cifra tonda di 400.000 per mm^3 di sangue, per effetto della perfusione diminuisce a 3000-9000 e non subisce in seguito che un lieve aumento; la quantità di emoglobina diminuisce da g 10 circa in 100 cm^3 di sangue fino a diventare indosabile e tale si mantiene per lunghissimo tempo. Solo in un caso, dopo 114 giorni dall'intervento, essa risultò di g 1,79 in 100 cm^3 di sangue e, dopo 150, di g 1,94. In tutte le rane salate di controllo, come risulta dall'esame della formula eritrocitaria, la costituzione morfologica del sangue è caratterizzata dalla presenza in circolo di numerosissime cellule eritroblastiche e da un arresto del loro normale processo cito-evolutivo.

Dall'esame delle stesse tabelle risulta che nelle rane salate e trattate con emoglobina, o ematina, o ematoporfirina, o ferropirrolo, o pirrolo, o citrato di ferro ammoniacale si verificano sempre notevoli modificazioni nella costituzione del sangue in confronto colle rane di controllo. Infatti nelle rane salate e trattate con emoglobina, la quantità della emoglobina del sangue, dopo circa due mesi dall'inizio del trattamento, si trova aumentata a g 3,11-3,44 in 100 cm^3 di sangue e dopo 150 giorni a g 5,08 e g 6,08. Dopo gli stessi periodi di tempo il numero degli eritrociti del sangue raggiunge rispettivamente i valori di 91-97.000 e di 145-157.000 per mm^3 di sangue, mentre nelle rane salate di controllo esso giunge soltanto a 62-79.000. Negli stessi animali la formula eritrocitaria del sangue dimostra che le cellule immature del sangue diminuiscono rapidamente dopo l'intervento fino a scomparire, a differenza di quanto succede nelle rane salate di controllo, in cui le forme

TABELLA I

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con emoglobina

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1929 e 1930	Giorno della perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm³ di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
I ♀	normale	I	3. XI	—	318'000	10,33				100
	salata	II	7. XI	3	14'600	indosabile				100
	e trattata	III	20. XII	46	48'200	—	2	13	10	90
	con emoglobina	IV	20. I	77	109'000	3,80			45	40
									13	87
II ♀	normale	I	3. XI	—	380'000	9,56				100
	salata	II	7. XI	3	12'500	indosabile				100
	e trattata	III	20. XII	46	38'300	—	1	16	6	94
	con emoglobina	IV	20. I	77	91'000	3,11			52	31
									11	89
III ♀	normale	I	3. XI	—	396'000	9,17				100
	salata	II	7. XI	3	16.300	indosabile				100
	e trattata	III	20. XII	46	40'000	—			14	86
	con emoglobina	IV	20. I.	77	97'000	3.44	1	8	61	30
									9	91
IV ♀	normale	I	3. XI	—	345.000	11,02				100
	salata	II	7. XI	3	15'900	indosabile				100
	»	III	20. XII	46	26'000	»			15	85
	»	IV	20. I	77	62'500	»	1	9	49	41
							3	12	58	27
V ♂	normale	I	6. XI	—	457'000	11,31				100
	salata	II	8. XI	1	10'800	indosabile				100
	e trattata	III	19. XII	44	42'500	—			12	88
	con emoglobina	IV	5. I	60	65'000	—	1	2	38	59
		V	1. III	114	152'000	5,67			5	84
		VI	6. IV	150	157'000	6,08			2	95
									12	98
VI ♀	normale	I	6. XI	—	450'000	11,20				100
	salata	II	8. XI	1	12'900	indosabile				100
	e trattata	III	19. XII	44	42'000	—			52	41
	con emoglobina	IV	5. I	60	66'000	—	1	6	15	85
		V	1. III	114	139'500	4,91			3	97
		VI	9. IV	150	45'200	5,08				100
VII ♀	normale	I	6. XI	—	439'000	10,46				100
	salata	II	8. XI	1	9'000	indosabile				100
	»	III	19. XII	44	29'000	»	5	22	57	26
	»	IV	5. I	60	43'200	»	5	24	52	26
	»	V	1. III	114	67'800	1,79		3	40	19
	»	VI	6. IV	150	79'000	1,74		4	43	57

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II, III, IV fu eseguita il 4 novembre 1929 e quella delle rane V, VI e VII il 7 novembre 1929. Le rane I, II, III, V e VI vennero sottoposte, l'8 novembre, il 25 novembre e il 20 dicembre 1929, ciascuna alla iniezione di 0.5 cm³ di una soluzione di Hb al 9,47, al 9,61 e al 6,33%. Alle rane V e VI vennero eseguite, il 3 febbraio e il 2 marzo 1930, altre due iniezioni di 0,5 cm³ ciascuna di una soluzione di emoglobina di rana al 9,86 e al 7,93%.

TABELLA II

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con ematina

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1930	Giorno dall'intervento	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
I ♀	normale	I	1. III	—	321'000	10,47				100
	salata e trattata con ematina	II	3. IV	33	35'000	indosabile				100
		III	15. IV	45	51'200	»		8	49	43
		IV	15. V	75	60'000	»		5	49	46
		V	15. VI	106	87'500	2,91		2	43	55
II ♀	normale	I	1. III	—	35'000	9,53				100
	salata e trattata con ematina	II	3. IV	33	38'000	indosabile				100
		III	15. IV	45	47'000	»	1	11	48	40
		IV	15. V	75	61'000	»		8	45	47
		V	15. VI	106	93'500	3,16		3	38	59
III ♂	normale	I	1. III	—	340'000	9,80				100
	salata e trattata con ematina	II	3. IV	33	36'300	indosabile				100
		III	15. IV	45	49'600	»	2	6	42	50
		IV	15. V	75	70'000	1,58	1	3	39	57
		V	15. VI	106	92'500	3,05		1	40	59
IV ♀	normale	I	2. III	—	310'000	10,00				100
	salata e trattata con ematina	II	4. IV	33	39'500	indosabile				100
		III	16. IV	45	56'200	»		4	50	46
		IV	16. V	75	63'000	»		1	48	51
		V	16. VI	106	39'500	2,77		1	45	54
V ♀	normale	I	2. III	—	365'000	8,17				100
	salata e trattata con ematina	II	4. IV	33	34'700	indosabile				100
		III	16. VI	45	48'000	»	1	7	50	42
		IV	16. V	75	61'000	»		1	38	61
		V	16. IV	106	86'500	2,39			33	67
VI ♀	normale	I	1. III	—	410'000	8,64				100
	salata » » »	II	3. IV	33	28'800	indosabile			11	89
		III	15. IV	45	31'500	»	2	18	40	40
		IV	15. V	75	37'000	»		16	58	25
		V	15. VI	106	44'000	»	1	10	55	35
VII ♂	normale	I	2. III	—	395'000	9,21				100
	salata	II	4. IV	33	26'500	indosabile				100
		III	16. IV	45	33'000	»	1	10	61	28
		IV	16 V	75	58'000	»		7	54	38
		V	16. VI	106	60'000	»		1	50	49

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II, III e VI fu eseguita il 1 marzo 1930 e quella delle rane IV, V e VII il 2 marzo 1930. Le rane I, II, III, IV e V furono sottoposte ciascuna successivamente ad otto iniezioni di 0,25 cm^3 di una soluzione di ematina all'1%; tali iniezioni vennero eseguite l'11, 15, 20, 25, 30 marzo e il 5, 10 e 15 aprile 1930.

TABELLA III.

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con ematoporfirina

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1930	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm³ di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
	normale	I	3. III	—	302'000	9,22				100
	salata	II	5. IV	33	20'500	indosabile				100
I ♂	e trattata	III	17. IV	45	38'500	»	1	15	49	35
	con	IV	17. V	75	54'600	»		10	41	49
	ematoporfir.	V	17. VI	106	95'000	3,30		3	32	65
	normale	I	3. III	—	338'000	8,40				100
	salata	II	5. IV	33	23'000	indosabile			9	91
II ♀	e trattata	III	17. IV	45	41'800	»	2	12	45	41
	con	IV	17. V	75	57'000	»	1	9	40	50
	ematoporfir.	V	17. VI	106	88'500	2,94		1	37	62
	normale	I	3. III	—	365'000	7,88				100
	salata	II	5. IV	33	19'000	indosabile				100
III ♀	e trattata	III	17. IV	45	45'200	»	3	15	40	42
	con	IV	17. V	75	60'500	»	1	10	38	51
	ematoporfir.	V	17. VI	106	91'000	2,88		7	35	58
	normale	I	4. III	—	375'000	9,62				100
	salata	II	6. IV	33	27'000	indosabile				100
IV ♂	e trattata	II	18. IV	45	39'500	»	1	6	41	52
	con	IV	18. V	75	52'000	»		1	40	59
	ematoporfir.	V	18. VI	106	85'000	2,71			50	50
	normale	I	4. III	—	305'000	8,37				100
	salata	II	6. IV	33	22'500	indosabile			6	94
V ♀	e trattata	III	18. IV	45	36'000	»	1	8	31	60
	con	IV	18. V	75	50'400	»		2	35	63
	ematoporfir.	V	18 VI	106	94'000	3,11			32	68
	normale	I	3. III	—	351'000	9,16				100
	salata	II	5. IV	33	18'000	indosabile				100
VI ♀	»	III	17. IV	45	30'000	»	1	16	51	32
	»	IV	17. V	75	39'000	»	2	19	61	18
	»	V	17. VI	106	51'000	»	1	12	50	37
	normale	I	4. III	—	306'000	8,07				100
	salata	II	6. IV	33	24'000	indosabile	1			100
VII ♂	»	III	18. III	45	29'900	»	1	14	61	24
	»	IV	18. V	75	37'000	»		10	58	31
	»	V	18. VI	106	48'000	»		7	58	35

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II, II, VI fu eseguita il 3 marzo e quella delle rane IV, V e VII il 4 aprile 1930. Le rane I, II, III, IV e V furono sottoposte ciascuna successivamente ad otto iniezioni di 0,25 cm³ di una soluzione di ematoporfirina all'1%; tali iniezioni vennero eseguite l'11 .15, 20, 25, 30 marzo e il 5, 10 e 15 aprile 1930.

Tabella IV

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con ferropirrolo

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1930	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
I ♀	normale	I	8. III	—	360'000	7,85				100
	salata	II	10. III	2	9'000	indosabile				99
	e trattata	III	9. IV	32	24'700	»	1	5	1	39
	con	IV	10. V	63	41'000	»		3	55	47
	ferropirrolo	V	15. VI	99	70'000	2,35			50	60
II ♀	normale	I	8. III	—	411'000	8,15				100
	salata	II	10. III	2	12'000	indosabile				100
	e trattata	III	9. IV	32	22'000	»		8	47	45
	con	IV	10. V	63	49'200	»		4	58	38
	ferropirrolo		15. VI	99	66'500	1,90		1	55	44
III ♂	normale	I	8. III	—	358'000	9,91				100
	salata	II	10. III	2	14'500	indosabile				100
	»	III	9. IV	32	29'400	»	1	10	52	37
	»	IV	10. V	63	33'000	»	3	16	57	14
	»	V	15. VI	99	40'500	»	1	9	62	28
IV ♀	normale	I	10. III	—	342'000	8,64			8	100
	salata	II	10. III	2	3'600	indosabile			42	92
	»	III	9. IV	32	20'000	»		6	48	53
	»	IV	10. V	63	28'000	»	1	6	35	35
	»	V	15. VI	99	45'000	2,04	1	4		60
V ♂	normale	I	10. III	—	324'000	8,07				100
	salata	II	10. III	—	5'200	indosabile			9	91
	e trattata	III	9. IV	30	18'800	»		7	43	50
	con	IV	10. V	61	42'000	»		3	40	57
	ferropirrolo	V	15. VI	97	69'500	2,20		1	39	60
VI ♀	normale	I	10. III	—	391'000	8,70				100
	salata	II	10. III	—	6'000	indosabile				100
	»	III	9. IV	30	22'300	»	1	8	59	32
	»	VI	10. V	61	35'000	»	1	13	56	30
	»	V	15. VI	97	48'000	»		9	48	43

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II e III fu eseguita l'8 marzo e quella delle rane IV, V e VI il 10 marzo 1930. Le rane I, II, V furono sottoposte ciascuna successivamente ad otto iniezioni di 0,25 cm^3 di una soluzione di ferropirrolo; tali iniezioni vennero eseguite il 10, 15, 22, 29 marzo e 1 5, 12, 19 e 26 aprile 1930.

TABELLA V

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con pirrolo

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1929 e 1930	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm^3 di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm^3 di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
I ♀	normale	I	6. XI	—	382'000	9,77				100
	salata e trattata con pirrolo	II	29. XI	23	10'000	indosabile		1	29	70
		III	11. XII	35	13'000	»	1	9	38	52
		IV	23. I	78	37'100	»	1	13	31	55
		V	6. III	120	62'000	»		6	25	69
		VI	26. III	140	88'200	2,14		2	31	67
II ♀	normale	I	6. XI	—	390'000	11,02				100
	salata e trattata con pirrolo	II	2. XII	26	21'000	indosabile	1	4	43	52
		III	23. I	78	46'500	»		3	51	46
		IV	3. III	117	61'300	»		1	45	51
		V	26. II	140	86'500	2,18			39	61
III ♂	normale	I	7. XI	—	320'000	8,90				100
	salata	II	29. XI	22	19'600	indosabile	1	5	38	56
	»	III	12. XII	35	24'000	»	1	7	52	40
	»	IV	24. I	78	47'800	»		2	50	48
	»	V	26. III	139	58'000	»		1	42	57
IV ♀	normale	I	7. XI	—	346'000	9,07				100
	salata	II	29. XI	22	26'400	indosabile	2	13	57	28
	»	III	24. I	78	41'000	»	3	8	70	19
	»	IV	3. III	116	53'300	»	1	9	58	32
	»	V	26. III	139	61'400	»		7	49	44
V ♀	normale	I	13. XI	—	386'500	9,35				100
	salata e trattata con pirrolo	II	16. XI	2	8'200	indosabile			12	88
		III	28. I	75	45'200	»	1	6	60	33
		IV	3. III	100	57'000	»		3	52	45
		V	26. III	132	83'500	2,35		1	50	59
VI ♂	normale	I	13. XI	—	339'000	9,16				100
	salata e trattata con pirrolo	II	16. XI	2	9'100	indosabile			10	90
		III	28. I	75	46'900	»	1	9	40	50
		IV	3. III	109	58'000	»	1	7	43	50
		V	26. III	132	88'500	2,21		4	35	61
VII ♀	normale	I	13. XI	—	408'000	11,15				100
	salata	II	16. XI	2	16'500	indosabile			6	94
	»	III	28. I	75	43'500	»	2	14	55	29
	»	IV	3. III	109	49'000	»	1	14	51	34
	»	V	26. III	132	55'300	»		12	50	38

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II fu eseguita il 6 novembre, quella delle rane III, IV il 7 novembre e quella delle rane V, VI e VII il 14 novembre 1929.

Le rane I, II, V, VI furono sottoposte ciascuna successivamente ad otto iniezioni di 0.25 cm^3 di una soluzione di pirrolo all'1‰; tali iniezioni furono eseguite il 3, 12. 17 dicembre 1929. il 3, 15 gennaio 1930 e l'1, 15, 25 febbraio 1930.

TABELLA VI.

Esperimenti eseguiti su rane salate e trattate o no con citrato di ferro ammoniacale

Numero e sesso della rana	Condizioni della rana	Numero dell'esperimento	Data 1929 e 1930	Giorno dalla perfusione	Numero degli eritrociti in 1 mm³ di sangue	Quantità di emoglobina in 100 cm³ di sangue g	Formula eritrocitaria			
							Proeritroblasti %	Eritroblasti basofili %	Eritroblasti policromatofili %	Eritrociti %
I ♂	normale	I	13. XII	—	388'000	8,80				100
	salata	II	14. XII	1	10'200	indosabile				100
	e trattata con citrato di ferro	III	25. I	43	15'500	»	1	5	43	51
		IV	25. II	74	38'000	»		1	40	59
		V	11. IV	119	54'000	1,98			38	62
II ♀	normale	I	13 XII	—	297'000	8,51				100
	salata	II	14. XII	1	13'000	indosabile				100
	e trattata con citrato di ferro	III	25. I	43	25'000	»	2	3	60	35
		IV	25. II	74	41'000	»		1	55	44
		V	11. IV	119	48'500	1,90			47	53
III ♀	normale	I	13. XII	—	313'000	7,76				100
	salata	II	14. XII	1	12'000	indosabile			40	100
	e trattata con citrato di ferro	III	25. I	43	19'700	»	1	6	51	53
		IV	25. II	74	36'300	»			46	49
		V	11. IV	119	62'000	1,79				54
IV ♂	normale	I	15. XII	—	400'000	9,31				100
	salata	II	16. XII	1	15'500	indosabile				100
	e trattata con citrato di ferro	III	27. I	49	29'000	»		7	50	43
		IV	12. IV	118	41'500	»		2	41	57
		V	27. IV	133	78'000	2,09		1	49	50
V ♀	normale	I	15. XII	—	394'000	9,52				100
	salata	II	16. XII	1	13'500	indosabile				100
	»	III	27. I	43	24'600	»	2	17	55	26
	»	IV	12. IV	118	46'000	»	1	22	40	37
VI ♀	normale	I	15. XII	—	312'000	7,90				100
	salata	II	16. XII	1	14'000	indosabile			6	94
	»	III	27. I	43	28'500	»	1	13	5 8	28
	»	IV	27. IV	133	45'200	»		10	45	45

Osservazioni. - La perfusione delle rane I, II, III fu eseguita il 13 dicembre e quella delle rane IV, V e VI il 15 dicembre 1929. Le rane I, II, III e IV furono sottoposte ciascuna successivamente ad otto iniezioni di 0,25 cm³ di una soluzione di citrato di ferro ammoniacale all'1%; tali iniezioni furono eseguite il 15 dicembre 1929, il 3 e il 15 gennaio 1930, il 1 e il 15 febbraio febbraio, il 1, 15 e 31 marzo 1930.

immature del sangue vanno gradualmente aumentando dopo la perfusione fino ad un valore massimo, che rimane poi quasi invariato per lunghissimo tempo.

Nelle rane salate e trattate con ematina o con ematoporfirina si riscontra un aumento della quantità di emoglobina e del numero degli eritrociti, aumento però che si rende manifesto a più lunga distanza di tempo dall'inizio del trattamento ed è meno accentuata che nelle rane trattate con emoglobina. Infatti dopo circa tre mesi e mezzo dalla perfusione la quantità della emoglobina è di g 2,77-3,16 in 100 cm^3 di sangue nelle rane salate e trattate con ematina e di g 2,71-3,30 in quelle salate e trattate con ematoporfirina. Dopo lo stesso periodo di tempo il numero degli eritrociti è rispettivamente di 89.000 e di 90.700 per mm^3 di sangue, e nelle rane di controllo di 50-52.000. La formula eritrocitaria del sangue in queste rane si comporta presso a poco come quella del sangue delle rane salate e trattate con emoglobina; le forme mature si trovano tuttavia in numero minore.

Infine nelle rane salate e trattate con ferropirrolo, con pirrolo o con citrato di ferro ammoniacale si riscontra un aumento della quantità di emoglobina e del numero degli eritrociti ancora minore che in quelle trattate con ematina o ematoporfirina. La quantità di emoglobina dopo tre-quattro mesi dalla perfusione è in media di g 2,12 in 100 cm^3 di sangue per le rane trattate con ferropirrolo e di g 2,57 e g 1,94 in quelle trattate con pirrolo o con citrato di ferro ammoniacale. Il numero degli eritrociti dopo lo stesso periodo di tempo aumenta rispettivamente a 68-59-51.000 per mm^3 di sangue, e nelle rane di controllo a 44-51-44.000. La formula eritrocitaria del sangue non è molto diversa da quella delle rane salate di controllo.

Devo infine aggiungere che in tutte le rane salate e trattate con emoglobina, o ematina, o ematoporfirina il color rosso o bruno del sangue apparve al microscopio essere dovuto, oltre che ad un aumento della quantità della emoglobina nei singoli eritrociti, soprattutto alla presenza di essa, oppure dell'ematina o dell'ematoporfirina nel plasma, presenza che era più manifesta subito dopo l'iniezione, ma che era constatabile anche molto tempo dopo.

IV. - Discussione e interpretazione dei risultati sperimentali.

I risultati dei miei esperimenti dimostrano che se si tratta la rana salata con iniezioni periodiche di emoglobina, o ematina, o ematoporfirina, o ferropirrolo, o pirrolo, o citrato di ferro ammoniacale si determina un considerevole aumento della quantità di emoglobina e del numero degli eritrociti, mentre nello stesso periodo di tempo nella rana salata e non trattata con le iniezioni, la emoglobina rimane sempre indosabile e il numero degli eritrociti non presenta che un lieve aumento. Le modificazioni del sangue sono però diverse a seconda della sostanza iniettata, e più precisamente la quantità di emoglobina ed il numero degli eritrociti aumentano in misura più notevole dopo iniezioni di emoglobina che non dopo quelle di ematina o di ematoporfirina. Molto minore è l'aumento dopo iniezioni di pirrolo o di ferropirrolo e minimo dopo quelle di citrato di ferro ammoniacale.

Questi risultati dimostrano anzitutto che, se pure l'organismo è in grado di formare l'emoglobina utilizzando i suoi prodotti di scissione ed anche quelli più semplici, incontra tuttavia una certa difficoltà in questo lavoro di sintesi, onde per compierlo impiega un periodo di tempo tanto più lungo, quanto più semplice è il materiale utilizzato nella formazione dell'emoglobina.

Il fatto che, dopo iniezioni di emoglobina, di ematina o di ematoporfirina, queste sostanze rimangono in parte notevole e per molto tempo disciolte nel plasma indica che le sostanze stesse sono state iniettate in quantità molto maggiore di quella che può essere subito utilizzata. Infatti non solo le forme immature di eritrociti si caricano più rapidamente di emoglobina, come risulta dalla formula eritrocitaria, ma una parte di emoglobina oppure di ematina o di ematoporfirina vengono trasformate in pigmenti biliari, come è provato dalla colorazione verdastra dell'intestino, che testimonia appunto una maggior formazione di pigmenti biliari.

In ogni modo l'emoglobina, come pure l'ematina e l'ematoporfirina, oltre ad arricchire di emoglobina le forme immature di eritrociti mobilitati dagli organi ematopoietici, devono esaltare in qualche modo la funzione di questi ultimi, perchè aumenta notevolmente il numero degli eritrociti neoformati che si trovano in circolo. Le stesse conseguenze, ma in misura molto meno accentuata, si hanno per effetto del pirrolo e del ferropirrolo.

Nelle rane salate trattate con le iniezioni osservai che la quantità di emoglobina ed il numero degli eritrociti andavano aumentando continuamente in progresso di tempo, ma non potevano raggiungere mai i valori normali, neppure dopo parecchi mesi, per la morte degli animali. Ciò dimostra ancora una volta quanto sia torpida la rigenerazione del sangue nella rana, nonostante la grande disponibilità di emoglobina o dei suoi derivati.

V. - Conclusioni.

1) Nella rana salata l'iniezione periodica di emoglobina o ematina o ematoporfirina o ferropirrolo o pirrolo o citrato di ferro ammoniacale determina sempre un considerevole aumento della quantità di emoglobina nel sangue e del numero degli eritrociti. L'aumento è maggiore dopo le iniezioni di emoglobina, che non dopo quelle di ematina o di ematoporfirina; è molto minore dopo le iniezioni di pirrolo o di ferropirrolo, minimo dopo quelle di citrato di ferro ammoniacale.

2) Per opera di tutte queste sostanze, non solo si arricchiscono di emoglobina le forme immature di eritrociti mobilitati dagli organi ematopoietici, ma questi ultimi sono stimolati a formare nuovi eritrociti.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ferrari R. - Ricerche ematologiche sulla rana salata. Eritropoiesi ed eritremia sperimentale. *Haematologica,* 1931, **12**, 19.

(2) Gayda T. - La produzione di calore nella rana in diverse condizioni sperimentali. Nota 2ª. Ricerche sulla rana salata. Questo *Archivio,* 1921, **2**, 333.

(3) Whipple G. H. e Robscheit-Robbins F. S. - Blood regeneration in severe anemia. I Standard basal ration bread and experimental methods. *Am. J. Physiol,* 1925, **82**, 396.

(4) Robscheit-Robbins F. S., e Whipple G. H. - Blood regeneration in severe anemia. II Favorable influence of liver, heart and skeletal muscle in diet. *Ibidem,* 1925, **82**, 408.

(5) Whipple G. H. - Hemoglobin construction within the body as influenced by diet factors. A consideration of anemia problems. *Am. J. med. Sc.,* 1928, **175**, 721.

(6) Whipple G. H. e Robscheit-Robbins F. S. - Blood regeneration in severe anemia. XVIII. Influence of liver and blood sausage, veal, eggs, chicken and gelatin. *Am. J. Physiol.,* 1930, **92**, 388.

(7) Robscheit-Robbins F. S. - The regeneration of hemoglobin and erythrocytes. *Physiological Reviews*, 1929, **9**, 666.

(8) Zoja L. - Sul ricambio emoglobinico in condizioni normali e patologiche. *Haematologica* (Recensioni), 1930, **11**, 25.

(9) Ferrari R. - Sulla formazione dell'emoglobina nel nucleo degli eritroblasti di rana. *Ibidem*, 1930, **11**, 267.

(10) Villa L. - Descrizione di un reperto morfologico riflettente un fenomeno biochimico nei megaloblasti. *Ibidem*, 1929, **10**, 327.

(11) Idem - Ulteriori reperti sul fenomeno della acidofilia nucleare primitiva nella serie emoglobinica; il probabile significato di esso. *Ibidem*, 1929, **10**, 355.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia.*

Vol. XXXI° — Fasc. 2°

INFLUENZA DEL PANCREAS SULLA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

R. Ferrari e F. Cortese.

Aiuto - Assistente.

(*Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia, diretto dal Prof. T. Gayda*).

1. — Introduzione.

Le ricerche eseguite finora sulla influenza che il pancreas esercita sulla coagulabilità del sangue sono molto scarse, discordanti ed incomplete.

Così Nolf (1) osservò che l'estratto acquoso del pancreas ha la proprietà di ritardare la coagulazione del sangue, a differenza degli estratti di ogni altro organo o tessuto, che esercitano invece una azione acceleratrice. In seguito Heard (2) osservò che l'azione esercitata dall'estratto del pancreas è in relazione colla concentrazione dell'estratto stesso. Infatti, mentre l'estratto diluito 100 volte accelera la coagulazione del sangue, come gli estratti di altri tessuti, diluito 20 volte la ritarda. D'altra parte Heard osservò che le soluzioni concentrate di tripsina hanno la proprietà di far coagulare il sangue ossalato. Secondo l'autore, l'azione della tripsina in questo caso si può paragonare a quella della trombina: egli sostiene che entrambi i fermenti determinano la coagulazione del sangue per effetto della loro attività proteolitica.

Questa ipotesi è sostenuta anche da Waldschmith-Leitz, Stadler e Steigerwaldt (3) i quali osservarono che nella capra, fra i vari enzimi proteolitici, solo la tripsina pancreatica attivata ha la proprietà di accelerare la coagulazione del sangue. Anche secondo questi autori, il meccanismo della coagulazione del sangue consisterebbe essenzialmente in un processo proteolitico determinato tanto dalla trombina quanto dalla tripsina.

Altri autori studiarono l'influenza del pancreas sulla coagulazione del sangue con esperimenti *in vivo*. Così Popielski (4-5) osservò che nel cane la stimolazione dei nervi secretori delle ghiandole salivari e del pancreas e la somministrazione di sostanze eccitosecretrici producono una diminuzione della coagulabilità del sangue che defluisce da detti organi, mentre risultato opposto si ha somministrando sostanze che inibiscono la secrezione; secondo l'autore, le variazioni locali della coagulabilità del sangue sarebbero in rapporto con le variazioni della secrezione ghiandolare.

Wohlgemuth (6), in alcune ricerche sulla influenza che la legatura dei dotti pancreatici nel cane esercita sulla quantità di trombina, di fibrinogeno e di diastasi del sangue, trovò che, mentre il fibrinogeno e la diastasi subiscono nei primi giorni dopo l'intervento un forte aumento per ritornare in seguito gradualmente al loro valore normale, la trombina non subisce invece alcuna variazione, o, tutt'al più, un lieve aumento, non costante. Hiruma (7), che ripetè nel coniglio questi esperimenti, determinando però anche il tempo di coagulazione, osservò, oltre ai fatti constatati da Wohlgemuth, un ritardo nel tempo di coagulazione del sangue.

Boldyreff (8-9) determinò il tempo di coagulazione del sangue sia nel cane spancreato, sia in quello a cui fu praticata la fistola pancreatica permanente o la legatura dei dotti. In ogni caso l'autore trovò un allungamento del tempo di coagulazione, il quale, già manifesto poche ore dopo l'intervento, può durare invariato per alcuni giorni, mentre in seguito si attenua fino a ritornare gradualmente al valore normale. Boldyreff osservò d'altra parte che la coagulabilità del sangue subisce oscillazioni periodiche in rapporto colla attività dell'intestino; essa cioè è maggiore durante il periodo di lavoro dell'intestino che non durante il periodo di riposo. Così pure se si introduce nel duodeno, durante il periodo di riposo dell'intestino, una miscela di succo pancreatico, di succo intestinale e di bile si ha sempre un aumento della coagulabilità del sangue, mentre la introduzione di succo gastrico nelle stesse condizioni non esercita alcuna influenza. Tutti questi fatti dimostrano, secondo Boldyreff, che il pancreas è una delle sorgenti più importanti di protrombina del sangue. Turcatti (10-11), però, pur confermando che il pancreas non è senza influenza sulla coagulabilità del sangue, constatò che esso non esplica un'azione così costante come sostiene Boldyreff. Infatti su 11 cani privati del pancreas, solo 5 presentarono un allungamento del tempo di coagulazione del sangue, mentre gli altri mostrarono un comportamento incostante

e irregolare. Risultati pure incostanti l'autore ottenne in 4 cani portatori di fistola pancreatica permanente e in 3 cani operati della legatura dei dotti pancreatici. Turcatti osservò inoltre che, se si inietta insulina ad un cane spancreato, si determina per lo più un allungamento del tempo di coagulazione. Questo fatto, secondo l'autore, dimostra che la ipocoagulabilità del sangue, che si osserva talvolta dopo l'asportazione del pancreas, non può essere dovuta alla mancanza di insulina nell'organismo.

Furono studiati anche i rapporti che intercorrono tra la coagulabilità del sangue, l'azione della insulina e la glicemia, senza tuttavia ottenere dati concordanti.

Così, mentre La Barre (12) osservò che nel cane la somministrazione di insulina pura non esercita alcuna influenza sulla coagulabilità del sangue, Partos e Svec (13) constatarono invece che esiste sempre una relazione fra la glicemia e la coagulazione del sangue. Infatti essi osservarono che nella intossicazione da fosforo si ha ipoglicemia e incoagulabilità, mentre il salasso provoca iperglicemia e aumento della coagulabilità. Inoltre, sostanze che determinano iperglicemia (adrenalina, salicilato di teobromina, morfina, glucosio, siero di cavallo, cloruro di calcio, estratti di milza, testicolo, fegato e muscoli) producono anche acceleramento della coagulazione del sangue. Secondo Partos e Svec la ipercoagulabilità del sangue non dipende propriamente dalla quantità di glucosio contenuta nel sangue, poichè iniettando una soluzione di glucosio nella vena cava inferiore, in un tratto compreso tra due legature, non si osserva alcuna modificazione della coagulabilità del sangue contenuto nel vaso. Gli autori pensano perciò che le sostanze sopraricordate, iniettate nell'organismo, agiscano forse sul fegato, determinando nello stesso tempo la iperglicemia e la ipercoagulabilità del sangue.

Tanaka e Hisaki (14) trovarono che piccole quantità di insulina iniettate nel coniglio determinano dapprima un ritardo nel tempo di coagulazione e, dopo qualche ora dalla iniezione, un acceleramento.

Ceruti e Palomba (15) osservarono il fatto singolare che, mentre la insulina non determina alcuna modificazione della coagulabilità del sangue nel cane maschio, nella femmina essa provoca invece costantemente un notevole acceleramento del tempo di coagulazione. Gli autori osservarono poi che nella cagna ovariectomizzata e trattata con insulina si determina un ritardo nel tempo di coagulazione del sangue. Perciò Ceruti e Palomba affermano che l'apparato genitale femminile secerne un ormone, il quale accelera la coagulazione del sangue

e che l'insulina determina un aumento della secrezione di questo ormone.

Di fronte a risultati così frammentari e poco concordanti, ci proponemmo di riprendere in esame sistematicamente la questione sulla influenza del pancreas sulla coagulabilità del sangue, studiando le variazioni non solo del tempo di coagulazione, ma anche quelle della trombina, del fibrinogeno e dell'antitrombina del sangue, sia nel cane spancreato, sia in quello a cui fu praticata la fistola pancreatica permanente oppure la legatura dei dotti pancreatici.

II. — Tecnica.

Nei nostri esperimenti determinavamo anzitutto nel cane normale il tempo di coagulazione, la trombina, il fibrinogeno e l'antitrombina del sangue. Praticavamo quindi all'animale l'asportazione del pancreas o la legatura dei dotti o la fistola pancreatica permanente. Sugli animali così operati ripetevamo in seguito altre due o tre volte, a varia distanza di tempo dall'intervento, le stesse determinazioni eseguite precedentemente.

Eseguimmo i nostri esperimenti su 15 cani, di cui 6 furono spancreati, 3 sottoposti alla legatura dei dotti e 4 operati di fistola pancreatica permanente. Sugli altri 2 cani, per stabilire la parte che spetta al trauma operatorio, alla narcosi ed ai salassi nel determinare le variazioni della coagulabilità del sangue, eseguimmo le stesse determinazioni limitando però l'intervento alla laparatomia eseguita in narcosi eterea-cloroformica.

Prelevavamo il sangue dal cane, digiuno da 12 ore, innestando una cannula paraffinata in una delle carotidi o in una delle femorali non ancora utilizzata in precedenti salassi.

Per la determinazione del tempo di coagulazione seguivamo il metodo di Feissly (16); dosavamo la trombina col metodo di Wohlgemuth (17), il fibrinogeno con quello di Foster e Whipple (18), l'antitrombina con quello di Howell e Hess (19). I particolari di questi metodi, che già da qualche anno sono in uso in questo Istituto, sono descritti in un lavoro di Livraga (20), al quale rimandiamo.

Per asportare il pancreas seguivamo la tecnica indicata da Le Play (21). Dopo aver inciso per una lughezza di 7-8 cm. i piani della parete addominale sulla linea mediana, in corrispondenza della regione gastrica, ricercavamo la grande curvatura dello stomaco, il piloro ed il duodeno e cominciavamo a separare la ghiandola dall'intestino par-

tendo dal segmento caudale, isolando accuratamente tutti i rami della arteria pancreatico-duodenale che andavano alla ghiandola e recidendoli sempre tra due legature; rispettando invece tutti i vasi che andavano ad irrorare l'intestino. Nella porzione intermedia della ghiandola, l'arteria pancreatico-duodenale decorre nello spessore del parenchima, ed è per ciò necessario isolarla con grande prudenza onde evitare facili emorragie; invece nella porzione alta l'isolamento della ghiandola è più facile, e la cura maggiore è di asportare completamente il segmento ghiandolare che risale lungo la parete posteriore dello stomaco.

Nei cani spancreati ci accertavamo che l'asportazione della ghiandola fosse completa, ricercando il glucosio nell'urina con il metodo di Nylander; la glicosuria apparve sempre prima che fossero trascorse 18 ore dall'intervento. In due esperimenti determinammo anche le variazioni della glicemia, con il metodo di Crecelius-Seyfert.

Per legare i dotti pancreatici cercavamo anzitutto, come punto di repere, il coledoco e lo seguivamo verso il suo sbocco nel duodeno, dove si trova facilmente il dotto pancreatico accessorio, che presenta un decorso perpendicolare a quello del coledoco. Il dotto principale si trova 2,5-3,5 cm. al disotto di questo punto ed è spesso ricoperto e nascosto nel suo tragitto dal tessuto ghiandolare, che aderisce alla parete dell'intestino. È necessario perciò scollare accuratamente la ghiandola, iniziando la ricerca del dotto principale nel punto indicato, lungo la faccia anteriore-sinistra del duodeno. Recidevamo i dotti pancreatici fra due legature.

Per eseguire la fistola pancreatica permanente, seguivamo pure la tecnica indicata da Le Play. Legavamo cioè anzitutto il dotto pancreatico accessorio ed isolavamo poi il dotto principale in corrispondenza del suo sbocco nel duodeno, scollando il parenchima ghiandolare circostante per un'estensione di 0,5-1 cm. In questo spazio introducevamo da ciascun lato del dotto due sonde che si incrociavano sulla faccia posteriore del duodeno, procedevamo quindi all'escissione di una piccola losanga di parete duodenale comprendente nel punto di mezzo lo sbocco del dotto pancreatico. Suturato l'intestino, fissavamo con punti staccati la losanga così recisa alla ferita operatoria della parete addominale e procedevamo quindi alla sutura di questa.

III. — Risultati sperimentali.

I risultati dei nostri esperimenti sono riportati nelle tabelle I-IV.

TABELLA I. *Esperimenti eseguiti sui cani spancreati.*

Numero, sesso e peso del cane Peso del pancreas	Condizione dell'animale	Data 1930-1931	Giorno dall'intervento	Tempo di coagulazione in minuti primi	Trombina in 1 cm³ di siero Unità di trombina	Fibrinogeno in 100 cm³ di plasma g.	Antitrombina tempo di coagulazione in minuti primi 0 goccie	3 goccie	5 goccie	Glicemia ‰
I, ♂	normale	26. V.	—	23	512	0.37	4	5	8	
Kg. 15	spancreato	27. V.	1	27	256	0.61	3 ½	4	6 ½	—
g. 32	»	29. V.	3	34	256	0.73	5	6	8	
II, ♂	normale	3. VI.	—	20	256	0.33	3	3	5	
	spancreato	5. VI.	2	21	128	0.59	3	4	6	
Kg. 11	»	7. VI.	4	19	64	0.70	3 ½	4	6	—
	»	9. VI.	6	26	32	0.55	3	3 ½	5 ½	
g. 26	»	11. VII.	38	19	128	0.53	2 ½	3 ½	4	
III, ♂	normale	6. VI.	—	24	128	0.36	2 ½	3	4	
	spancreato	7. VI.	1	23	64	0.54	3	4	6	
Kg. 15	»	9. VI.	3	23	64	0.64	3 ½	5	7	—
	»	11. VI.	5	22	128	0.57	4	4	5 ½	
g. 36	»	13. VI.	7	20	128	0.54	3	3 ½	4 ½	
IV, ♂	normale	18. VI.	—	16	512	0.46	2	2 ½	3	
Kg. 16	spancreato	20. VI.	2	20	256	0.74	2 ½	3	3 ½	—
g. 37	»	23. VI.	5	28	128	0.59	2 ½	3	3 ½	
V, ♂	normale	10. III.	—	19	128	0.32	5 ½	7	11	0.90
	spancreato	23. III.	2	32	64	0.63	5	6	8 ½	2.50
Kg. 7,5	»	25. III.	4	33	32	0.54	6	7 ½	11	3.40
g. 19	»	27. III.	6	37	64	0.64	4 ½	6 ½	12	3.25
VI, ♂	normale	18. III.	—	22	128	0.34	6 ½	10 ½	11 ½	0.85
Kg. 15,5	spancreato	24. III.	1	35	32	0.51	5 ½	8 ½	13	2.80
g. 35	»	27. III.	4	31	64	0.61	5	7	12	3.10

Osservazioni: Nell'esperimento II, una settimana dopo l'intervento fu iniziato un trattamento insulinico che fu sospeso tre giorni prima dell'ultima determinazione.

Esperimenti eseguiti sui cani a cui fu praticata la fistola pancreatica. TABELLA II.

Numero sesso e peso del cane	Condizione dell'animale	Data 1931	Giorno dall'intervento	Tempo di coagulazione in minuti primi	Trombina in 1 cm³ di siero Unità di trombina	Fibrinogeno in 100 cm³ di plasma g.	Antitrombina Tempo di coagulazione in minuti primi		
							0 goccie	3 goccie	5 goccie
VII, ♂	normale	28. III.	—	18	256	0.32	5	9	11 ½
	con fistola pancreatica	3. IV.	2	30	128	0.61	7	10	12
Kg. 29	» » »	7. IV.	6	32	128	0.55	8	10 ½	12 ½
	» » »	10. IV.	9	25	64	0.58	7	8 ½	12
VIII, ♀	normale	7. IV.	—	18	256	0.35	5	6	8
	con fistola pancreatica	15. IV.	2	29	128	0.67	7	8	9
Kg. 14	» » »	16. IV.	3	30	128	0.68	6	7	11
IX, ♂	normale	14. IV.	—	16	128	0.34	3	4 ½	6
	con fistola pancreatica	25. IV.	2	28	64	0.65	4	6	9
Kg. 23	» » »	27. IV.	4	26	64	0.68	4 ½	7	9
X, ♀	normale	1. V.	—	18	128	0.35	3	5 ½	10
	con fistola pancreatica	9. V.	4	29	64	0.60	4	6	9
Kg. 10,5	» »	13. V.	8	21	64	0.58	4	5	8 ½
	» » »	16. V.	11	17	128	0.58	6	7	11

TABELLA III

Esperimenti eseguiti sui cani a cui fu praticata la legatura dei dotti pancreatici.

Numero sesso e peso del cane	Condizione dell'animale	Data 1931	Giorno dall'intervento	Tempo di coagulazione in minuti primi	Trombina in 1 cm³ di siero Unità di trombina	Fibrinogeno in 100 cm³ di plasma gr.	Antitrombina Tempo di coagulazione in minuti primi		
							0 goccie	3 goccie	5 goccie
XI, ♂	normale	24. III.	—	22	128	0.29	4	6	9 ½
	coi dotti pancr. legati	14. IV.	3	16	128	0.63	6	7	8 ½
Kg. 7	» » »	17. IV.	6	20	128	0.56	5	6	9
	» » »	22. IV.	11	25	128	0.49	4	7	10
XII, ♀	normale	27. III.	—	24	64	0.34	4	6	7
	coi dotti pancr. legati	31. III.	1	20	128	0.55	5	7	8
Kg. 27	» » »	3. IV.	4	34	128	0.54	4	6	8
	» » »	8. IV.	9	–	64	0.50	6	7	9
XIII, ♂	normale	1. IV.	—	20	128	0.32	4	5	7
	coi dotti pancr. legati	8. IV.	5	23	256	0.57	3	5	6 ½
Kg. 22	» » »	10. IV.	7	14	256	0.54	3 ½	6	7
	» » »	14. IV.	11	17	128	0.51	4	7	9

TABELLA IV.

Esperimenti di controllo eseguiti sui cani a cui fu praticata la semplice laparotomia.

Numero sesso e peso del cane	Condizione dell'animale	Data 1931	Giorno dall'intervento	Tempo di coagulazione in minuti primi	Trombina in 1 cm³ di siero Unità di trombina	Fibrinogeno in 100 cm³ di plasma gr.	Antitrombina Tempo di coagulazione in minuti primi		
							0 goccie	3 goccie	5 goccie
XIV, ♂	normale	28. V.	—	18	256	0.36	4	5	7
Kg. 28	laparotomizzato	30. V.	2	19	256	0.76	2	3 ½	4
	»	2. VI.	5	20	256	0.82	4	4	6 ½
XV, ♀	normale	19. III.	—	24	128	0.40	5 ½	8	10 ½
Kg. 12	laparotomizzato	28. III.	3	28	128	0.70	4	7 ½	11
	»	31. III.	6	25	128	0.50	5	7	10

IV. — INTERPRETAZIONE E DISCUSSIONE DEI RISULTATI SPERIMENTALI.

I risultati dei nostri esperimenti si possono compendiare nei seguenti fatti:

a) Nel cane spancreato, come risulta dalla tabella I, si nota che in due casi il tempo di coagulazione non subisce variazioni notevoli, negli altri quattro presenta un aumento che oscilla fra il 50% (esperimento I) e il 100% (esperimento V). La trombina diminuisce costantemente riducendosi alla metà fino ad un ottavo del normale; nella maggior parte degli esperimenti la diminuzione raggiunge il massimo poco tempo dopo l'operazione, mentre in seguito la trombina tende a risalire verso il valore normale. Il fibrinogeno aumenta costantemente fino a circa il doppio del normale. L'antitrombina non subisce variazioni notevoli.

b) Nel cane a cui fu praticata la fistola pancreatica permanente si verificano, come risulta dalla tabella II, gli stessi fatti che si osservano dopo l'asportazione della ghiandola e cioè allungamento costante del tempo di coagulazione, diminuzione della trombina ed aumento del

fibrinogeno del sangue. L'aumento del tempo di coagulazione oscilla fra il 66% (esperimenti VIII, X) e il 75% (esperimenti VII, IX); la trombina si riduce alla metà fino a un quarto; il fibrinogeno aumenta fino a raddoppiarsi.

c) La legatura dei dotti pancreatici, come risulta dalla tabella III, non determina variazioni costanti e caratteristiche del tempo di coagulazione e della quantità di trombina; solo talvolta, nelle determinazioni eseguite poco tempo dopo l'intervento operatorio, si nota un lieve abbreviamento del tempo di coagulazione ed un lieve aumento della trombina. Il fibrinogeno presenta un netto aumento, fino a raddoppiarsi; l'antitrombina non subisce variazioni.

d) Negli esperimenti di controllo, in cui fu eseguita semplicemente la laparotomia sotto narcosi, come si rileva dalla tabella IV, non si ha alcuna variazione del tempo di coagulazione, della trombina e dell'antitrombina del sangue. Il fibrinogeno invece, come nei casi precedenti, aumenta sempre fino a raddoppiarsi.

Dall'esame dei risultati dei nostri esperimenti si rileva dunque anzitutto che il pancreas esercita una spiccata influenza sulla coagulabilità del sangue.

Tali risultati indicano inoltre che l'azione del pancreas sulla coagulabilità del sangue si esplica essenzialmente attraverso alla sua funzione di ghiandola a secrezione esterna. Infatti gli stessi risultati, che si osservano in seguito alla asportazione completa del pancreas, si ottengono anche in seguito alla fistola pancreatica permanente, per effetto della quale, come dopo l'asportazione del pancreas, il succo pancreatico non si versa più nell'intestino.

Il fatto che l'asportazione del pancreas e la fistola pancreatica permanente determinano un allungamento del tempo di coagulazione del sangue era già stato constatato da Boldyreff ed è da noi interamente confermato.

Inoltre noi dobbiamo aggiungere che la costante diminuzione della trombina, da noi osservata nelle stesse condizioni sperimentali, come pure il lieve aumento di essa che si determina, talvolta, in seguito alla legatura dei dotti, è in armonia con la concezione teorica di Boldyreff che il pancreas sia una delle principali sorgenti di protrombina del sangue.

I nostri risultati sperimentali non dimostrano però ancora che nel succo pancreatico sia contenuta la protrombina; essi piuttosto ci fanno ritenere che nel succo pancreatico sia contenuta una sostanza che, assorbita dall'intestino, passi nel sangue ed ecciti la formazione di pro-

trombina nel fegato o in altri organi. Quando il succo pancreatico non si versa più nell'intestino, come succede dopo l'asportazione del pancreas o nella fistola permanente, tale sostanza viene a mancare e perciò diminuisce la coagulabilità del sangue. Quando invece i dotti sono legati, la sostanza in questione, che in un primo tempo ristagna nel pancreas, passa da quest'organo direttamente in circolo e perciò aumenta la coagulabilità del sangue.

Dall'insieme degli esperimenti risulta poi che, dopo un certo tempo dall'intervento sul pancreas, il tempo di coagulazione e la quantità di trombina tendono a riacquistare i valori normali; si deve ammettere per ciò che nell'organismo esistano fattori vicarianti la funzione pancreatica nella regolazione della coagulabilità sanguigna.

Infine, si può escludere che l'allungamento del tempo di coagulazione del sangue, che si verifica allorchè manca la secrezione pancreatica esterna, sia da attribuirsi all'aumento della quantità di fibrinogeno; tale aumento, costante in tutti i nostri esperimenti, si deve considerare come una conseguenza del trauma operatorio, poichè esso si produce nella stessa misura anche negli esperimenti di controllo. Per questa ragione si deve anche escludere che l'aumento del fibrinogeno sia dovuto alla abolizione della secrezione pancreatica.

V. — Conclusioni.

In base ai nostri risultati sperimentali noi crediamo di poter affermare quanto segue:

1° L'influenza che il pancreas esercita sulla coagulazione del sangue si esplica attraverso alla sua funzione di ghiandola a secrezione esterna. Allorchè tale funzione manca, si produce un allungamento del tempo di coagulazione ed una diminuzione della trombina del sangue. Questo fatto ci fa ritenere che nel succo pancreatico, se non esiste proprio la protrombina, come sostiene Boldyreff, sia contenuta però una sostanza, che, assorbita dall'intestino, passi nel sangue e ecciti la formazione di protrombina nel fegato o in altri organi. Quando il succo pancreatico non si versa più nell'intestino, come succede dopo l'asportazione del pancreas o nella fistola pancreatica permanente, tale sostanza viene a mancare e perciò diminuisce la coagulabilità del sangue. Quando invece i dotti sono legati, la sostanza in questione, che ristagna nel pancreas, passa da quest'organo direttamente in circolo e perciò aumenta la coagulabilità del sangue.

2°. L'aumento costante del fibrinogeno, osservato negli esperimenti, si deve considerare come una conseguenza del trauma operatorio, poichè esso si produce nella stessa misura anche negli esperimenti di controllo.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Nolf. Contribution a l'étude de la coagulation du sang. (8e Mémoire). « Arch. intern. de Physiol. », VII, p. 411, 1909.

(2) Heard W. H. The calcium and phosphorus of the blood and a suggestion as to the nature of the act of the coagulation. « Journ. of Physiol », LI, p. 294, 1917.

(3) Waldschmidt Leitz E., Stadler P. e Steigerwaldt F. UeberBlutgerinnung.. Hemmung und Beschleunigung. « Hoppe Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie », CLXXXIII, p. 39, 1929.

(4) Popielski L. Blutdruck und Ungerinnbarkeit des Blutes bei der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen. « Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol », CXXXXIV, p. 135, 1912.

(5) Id. Die Ungerinnbarkeit des Blutes bei der reflektorischen Tätigkeit der Speicheldrüsen und Bauchspeicheldrüsen. « Plueger's. Arch. f. d. ges. Physiol. », CL, p. 1, 1913.

(6) Wohlgemuth J. Ueber die Bildungstätte des Fibrinogens. Ein Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen Pancreas und Leber. « Berl. Klin. Wochenschr. », IV, p. 87, 1917.

(7) Hiruma K. Studien ueber die Beziehung einzelner Organe zur Blutgerinnung und über die Beeinflussung der Thrombinwirkung durch Secrete und Excrete, nebst Untersuchungen über Antitrombin und über Fibronolyse. « Biochem. Z. », CXXXIX, p. 152, 1923.

(8) Boldyreff W. N. e Boldyreff A. W. Le pancréas, source de fibrine-fermente du sang « C. R. de le Soc. de Biol. », LXXXXV, p. 447, 1926.

(9) Boldyreff W. N. Das Pancreas als eine Quelle des Fibrinfermentes im Blut. « Ergebnisse der Physiol. », XXIX, p. 575, 1929.

(10) Turcatti E. S. Papel del pancréas, de la glucemia y de la adrenalina en la coagulación de la sangre. « Rev. Sud-Amer. de Endocr. Immun. y Quimioter », XII, no. 6, 1929.

(11) Id. Rôle du pancréas, de la glycemie et de l'adrénaline sur la coagulation du sang. « C. R. de la Soc. de Biol », C, p. 116, 1929.

(12) La Barre. J. L. Action des extraits pancréatiques (insuline) dans la coagulation du sang. « C. R. de la Soc. de Biol. », XCI, p. 393, 1924.

(13) Partos e Svec. Gesetzmassige Zusammenhang zwischen Blutzuckergehalt und Blutgerinnungszeit « Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. », CCXVIII, p. 209. 1927 e CCXIX, p. 481, 1928.

(14) Tanaka e Hisaki. Studien on the regulation of blood coagulation from the pharmacological point of view « Okayama-Igakkai-Zasshi », XL, p. 3, 1928. (Cit. da Ceruti e Palomba).

(15) Ceruti G. e Palomba G. Variazione della coagulabilità del sangue in rapporto a variazioni del tasso glicemico ottenute mediante iniezioni di insulina « Arch. di Fisiol. », XXVIII, p. 591, 1930.

(16) Feissly R. Dispositif pour la mesure de la vitesse et de la marche de la coagulation sanguine. « C. R. de la Soc. de Biol. », LXXXXVII, p. 467, 1927.

(17) Wohlgemuth J. Methode für quantitativen Bestimmung des Fibrinferments « Grund. d. Fermentmethoden », p. 320, Berlin, 1913.

(18) Foster D. P. e Whipple G. H. Bloodfibrin Studies. I. An accurate method for the quantitativen Analysis of bloodfibrin in small amounts of blood. « Amer. J. of Physiol. », LVIII, p. 365. 1922.

(19) Hess A. F. A test for Antithrombin in the blood. « Journ of exper. med. », XXI, p. 338, 1915.

(20) Livraga P. Influenza del sistema nervoso autonomo sulla coagulazione del sangue. « Arch. di Fisiol. », XXX, p. 189, 1931.

(21) Le Play A. Technique opératoire physiologique. Tube digestif et ses annexes. Paris, 1912.

INFLUENZA DELLA TIROIDECTOMIA SUL POTERE AMILOLITICO DELLA SALIVA E DEL SANGUE.

Di Tullio Gayda.

(*Dal Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pavia*)

I. - Introduzione e Tecnica.

Proseguendo lo studio delle variazioni del potere amilolitico della saliva e del sangue in diverse condizioni sperimentali (1-3), mi proposi di ricercare quale influenza abbia su tale potere la tiroidectomia. Queste ricerche mi parvero giustificate dal fatto che la tiroide sta in rapporto col metabolismo degli idrati di carbonio e questo, a sua volta, come risulta dalle mie precedenti indagini, può influire notevolmente sul potere amilolitico della saliva e del sangue.

Eseguii gli esperimenti su due figliate di conigli di circa un mese di età. La prima figliata era costituita da sei coniglietti, dei quali quattro furono stiroidati e due furono tenuti come controlli. La seconda figliata era costituita da tre soli coniglietti, dei quali due furono stiroidati e uno fu tenuto come controllo.

Praticavo la tiroidectomia in pochi minuti, senza ricorrere alla narcosi. Come è noto, nel coniglio la tiroide è costituita da due lobi riuniti fra di loro da un istmo; delle quattro paratiroidi solo le due interne o superiori sono incluse nei lobi tiroidei, mentre le due esterne o inferiori sono separate dalla tiroide e vengono perciò rispettate nell'asportazione di quest'organo.

Nei giorni precedenti a quello della tiroidectomia determinavo in tutti i conigli della stessa figliata il potere amilolitico della saliva e del sangue. Ripetevo le determinazioni negli stessi animali nei giorni seguenti, a diverso intervallo di tempo, fino alla morte dei conigli stiroidati.

Il modo di raccogliere il sangue e la saliva dagli animali e il metodo per determinare il potere amilolitico erano gli stessi già seguiti nelle mie ricerche precedenti, alle quali rimando per i particolari. Qui ricordo solo che il potere amilolitico della saliva e quello del siero, determinati col metodo originale di Wohlgemuth (4), sono contraddistinti rispettivamente col simbolo D_1h e $D_{24}h$ e sono espessi dal numero di centimetri cubici di una soluzione di amido solubile all'1 %, che sono trasformati in destrine da 1 cm^3 di saliva o di siero, rispettivamente in 1 ora o in 24 ore, alla temperatura di 38° C.

II. - Risultati sperimentali.

I risultati ottenuti dagli esperimenti sono prospettati nelle tabelle I e II (v. alle pagg. 208 e 209).

I dati contenuti in queste tabelle indicano anzitutto che il potere amilolitico della saliva tende a crescere coll'età dell'animale e ciò si verifica nella stessa misura nei conigli stiroidati e in quelli tenuti come controllo. Si deve perciò concludere che la tiroidectomia non ha alcuna influenza sul potere amilolitico della saliva. Neppure la velocità, colla quale veniva secreta la saliva, e la latenza, che intercedeva fra il momento in cui la pilocarpina era instillata nel sacco congiuntivale e il momento in cui cominciava a defluire la saliva dalla bocca, presentavano variazioni apprezzabili dopo la tiroidectomia.

Invece il potere amilolitico del siero, mentre non varia affatto nei conigli normali, subisce una graduale diminuzione in quelli stiroidati. La diminuzione è lieve, ma deve tuttavia essere presa in considerazione, data l'assoluta costanza del potere amilolitico del siero nello stesso animale, in condizioni normali, anche a distanza di tempo.

TABELLA I.

Esperimenti eseguiti sui conigli della prima figliata.

Numero e sesso del coniglio	Data 1929	Condizione del coniglio	Peso del corpo kg	Giorni dopo la tiroidectomia	Saliva D_1h	Siero $D_{.4}h$
I ♀	24.V	normale	0,430	—	31	25
	11.VI	stiroidato	0,830	11	50	25
	29.VI	»	1,150	29	62	20
	25.VII	»	1,380	55	50	20
	23.X	»	1,330	145	156	16
II ♀	25.V	normale	0,440	—	16	31
	12.VI	stiroidato	0,860	12	16	25
	30.VI	»	1,150	30	78	20
	25.VII	»	1,320	55	62	20
III ♀	27.V	normale	0,480	—	6	31
	15.VI	»	0,880	—	62	31
	3.VII	»	1,250	—	50	31
	28.VII	»	1,500	—	78	31
	28.X	»	2,280	—	98	31
IV ♀	28.V	normale	0,500	—	6	31
	13.VI	stiroidato	0,830	13	31	20
	1.VII	»	1,040	31	20	20
	26.VII	»	1,140	56	39	20
	14.X	»	0,920	136	39	16
V ♀	29.V	normale	0,560	—	5	39
	16.VI	»	0,900	—	10	39
	4.VII	»	1,260	—	50	39
	28.VII	»	1,530	—	50	39
	27.X	»	2,340	—	62	39
VI ♀	30.V	normale	0,480	—	78	31
	14.VI	stiroidato	0,800	14	62	31
	2.VII	»	1,180	32	125	31
	26.VII	»	1,360	56	98	31
	24.X	»	2,270	146	125	31

Osservazioni. - La tiroidectomia nei conigli I, II, IV e VI viene eseguita il 31 maggio 1929. I conigli I, II e IV muoiono rispettiva-

mente il 29 ottobre, il 4 settembre e il 17 ottobre 1929. Il coniglio VI non muore in seguito alla tiroidectomia; il 4 dicembre 1929 lo si sacrifica; all'autopsia si riscontra, davanti alla trachea, un piccolo corpo, che, all'esame istologico, risulta essere una porzione non asportata di tiroide.

Tabella II γ.

Esperimenti eseguiti sui conigli della seconda figliata.

Numero e sesso del coniglio	Data 1929	Condizione del coniglio	Peso del corpo kg	Giorni dopo la tiroidectomia	Saliva D_1h	Siero $D_{24}h$
VII ♀	12.VI	normale	0,490	—	8	25
	28.VI	»	0,780	—	10	25
	29.VII	»	1,360	—	31	25
	29.X	»	2,150	—	25	25
VIII ♀	13.VI	normale	0,540	—	6	31
	26.VI	stiroidato	0,810	11	5	31
	27.VII	»	1,180	42	16	20
	25.X	»	1,350	132	39	20
IX ♀	14.VI	normale	0,540		10	30
	27.VI	stiroidato	0,780	12	13	39
	27.VII	»	1,140	42	39	25
	26.X	»	1,260	133	78	20

Osservazioni. - La tiroidectomia nei conigli VIII e IX viene eseguita il 15 giugno 1929. I conigli VIII e IX muoiono rispettivamente il 18 e il 30 novembre 1929.

Per quanto riguarda il comportamento degli animali dopo la tiroidectomia, essi presentavano sempre, a partire da quattro settimane circa dopo l'operazione, i sintomi caratteristici dell'atireosi consistenti in un arresto dello sviluppo scheletrico, in un rallentamento della crescita del peso del corpo, in una notevole ipotermia, in disturbi trofici della pelle, che appariva grassa e seborroica e perdeva i peli, in un arrotondamento della forma generale del corpo, che ricordava quello che si osserva nel mixedema infantile, e più tardi in un dimagramento progressivo e in uno stato di cachessia,

che portava a morte l'animale nello spazio di tre fino a cinque mesi dopo la tiroidectomia.

III. - Discussione dei risultati sperimentali.

Come risulta dai miei esperimenti, la tiroidectomia influisce solo sul potere amilolitico del siero, mentre non modifica in modo apprezzabile quello della saliva.

La diminuzione del potere amilolitico del siero, che si verifica dopo l'asportazione della tiroide, è certamente dovuta alla mancanza di questo organo e non all'operazione per sè stessa, perchè essa continua per molto tempo dopo l'operazione e d'altra parte non si manifesta affatto quando l'asportazione della tiroide non è completa. Lo dimostra chiaramente la duratura costanza del potere amilolitico del siero del coniglio VI, al quale fu bensì praticata la tiroidectomia, ma questa non riuscì completa, come risultò prima dall'assenza assoluta dei sintomi dell'atireosi e poi dal reperto dell'autopsia.

Le difficoltà sorgono quando si tratta di stabilire la causa della diminuzione del potere amilolitico del siero dopo la tiroidectomia.

Come ho detto più sopra, a compiere le presenti ricerche fui indotto dalla considerazione che la tiroide sta in rapporto col metabolismo degli idrati di carbonio, il quale può produrre notevoli modificazioni del potere amilolitico del sangue. A questo proposito occorre tener presente che la tiroide può influire sul metabolismo degli idrati di carbonio per le correlazioni esistenti fra questo organo da una parte e il pancreas e le capsule surrenali dall'altra. Infatti, come risulta soprattutto dalle note ricerche di Eppinger, Falta e Rudinger (5), la tiroide favorisce l'attività del sistema cromaffine, mentre inibisce quella del pancreas. Per conseguenza, dopo l'asportazione della tiroide, venendo a mancare l'azione favorevole sul sistema cromaffine, si rallenta la mobilitazione degli idrati di carbonio, mentre d'altra parte, venendo a cessare l'azione inibitrice sul pancreas, la funzione di questo organo si esalta e perciò aumenta enormemente il limite di assimilazione degli idrati di carbonio, tanto che un'iniezione di adrenalina non determina più glicosuria, neppure se contemporaneamente viene somministrato zucchero.

Per cercare di spiegare la diminuzione del potere amilolitico del siero, da me riscontrata dopo la tiroidectomia, vanno considerate

soprattutto le correlazioni esistenti fra la tiroide e le capsule surrenali, perchè, come constatai in precedenti ricerche (2, 3), questi ultimi organi hanno una notevole influenza sul potere amilolitico del siero, giacchè esso diminuisce dopo iniezioni sottocutanee di adrenalina, mentre aumenta dopo l'asportazione delle capsule surrenali. Ora la tiroide attiva effettivamente la produzione di adrenalina da parte delle capsule surrenali; Herring (6-8) infatti trovò che la quantità di adrenalina in esse contenuta diminuisce dopo la tiroidectomia, mentre aumenta dopo alimentazione con tiroide. Ma, stando così le cose, si deve escludere che la diminuzione del potere amilolitico del siero, dopo la tiroidectomia, sia dovuta alla soppressione dell'azione favorevole, che la tiroide esercita normalmente sull'attività delle capsule surrenali, perchè, se così fosse, diminuendo la produzione di adrenalina dopo la tiroidectomia, dovrebbe verificarsi non una diminuzione, ma bensì un aumento del potere amilolitico del siero.

Non rimane perciò che ammettere che la diminuzione, che l'amilasi contenuta nel sangue subisce dopo la tiroidectomia, sia in rapporto col rallentamento generale del ricambio determinato dalla soppressione della funzione della tiroide e, sotto questo punto di vista, corrisponda alla diminuzione che, nelle stesse condizioni, subiscono gli altri fermenti del sangue. Così Winternitz e Pratt (9), Juschtschenko (10-13), Magath (14), Timofejewa (15) e Castagna (16) trovarono che la catalasi diminuisce costantemente dopo la tiroidectomia, mentre aumenta dopo la somministrazione di tiroide o di tiroidina. L'identico comportamento osservarono Juschtschenko (10, 11) e Nakamura (17) per la lipasi. Juschtschenko (12, 13) e Magath (14) per la nucleasi, Juschtschenko (12, 13) e Nakamura (17) per l'antitripsina. La tripsina del sangue poi, secondo Nakamura (17), diminuisce non solo dopo la tiroidectomia, ma anche dopo la somministrazione di tiroide.

IV. - Conclusioni.

1) La tiroidectomia, nel coniglio, non ha alcuna influenza sul potere amilolitico della saliva.

2) Il potere amilolitico del siero di sangue invece subisce, dopo la tiroidectomia, una graduale diminuzione, che corrisponde a quella che, nelle stesse condizioni, subiscono tutti i fermenti del sangue.

V. - BIBLIOGRAFIA

(1) G a y d a T. - Influenza dell'insulina sul potere amilolitico della saliva e del sangue. Questo *Archivio*, 1928, **12**, 197.

(2) G a y d a T. - Influenza dell'iperglicemia sul potere amilolitico della saliva e del sangue. *Ibidem*, 1930, **15**, 147.

(3) G a y d a T. - Influenza dell'asportazione delle capsule surrenali sul potere amilolitico della saliva e del sangue. *Ibidem*, 1930, **15**, 162.

(4) W o h l g e m u t h J. - Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. *Biochem. Zeitschr.*, 1908, **9**, 1.

(5) E p p i n g e r H., F a l t a W. und R u d i n g e r C. - Ueber die Wechselwirkung der Drüsen mit innerer Sekretion. *Zeitschr. f. klin. Med.*, 1908, **66**, 1.

(6) H e r r i n g P. T. - The effects of thyroidectomy and thyroid-feeding upon the adrenalin content of the suprarenals. *Quart. Journ. of exp. Physiol.*, 1916, **9**, 391.

(7) H e r r i n g P. T. - The effect of thyroid-feeding on the weight of the suprarenals and on their adrenalin content. *Ibidem*, 1917, **11**, 47.

(8) H e r r i n g P. T. - The adrenalin content of the suprarenals of the female white rat and the changes brought about by thyroid-feeding and other conditions. *Ibidem*, 1920, **12**, 115.

(9) W i n t e r n i t z M. C. and P r a t t J. P. - The influence of various organs on the catalytic activity of the blood. *J. of exp. Med.*, 1910, **12**, 115.

(10) J u s c h t s c h e n k o A. - Ueber die fettspaltenden und oxydierenden Fermente der Schilddrüse und den Einfluss letzterer auf die lipolytischen und oxydierenden Prozesse im Blut. *Biochem. Zeitschr.*, 1910, **25**, 49.

(11) J u s c h t s c h e n k o A. - Contribution à la physiologie du corps thyroïde. Sur la lipase et les oxydases du corps thyroïde et l'influence de ce dernier sur les processus lipolytiques et oxydants ayant lieu dans le sang. *Arch. d. Scienc. biol.*, Pétersbourg, 1910, **15**, 173.

(12) J u s c h t s c h e n k o A. - Die Schilddrüse und die fermentativen Prozesse. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1911, **75**, 141.

(13) J u s c h t s c h e n k o A. - Schilddrüse und fermentative Prozesse. *Verhandl. d. Gesellsch. russ. Aerzte z. Petersburg*, 1911, **78**, 208.

(14) M a g a t h - Die Fermentveränderung des Blutes bei vollkommener und teilweiser Entfernung des Thyreoideal- und Parathyreoidealapparates. *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.*, 1922, **29**, 264.

(15) T i m o f e j e w a A. - Ueber die Einwirkung von Jod und Jodpräparate, Thyreoidektomie und Schilddrüsenfütterung auf die Blutkatalase in vitro und in vivo. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, **180**, 35.

(16) C a s t a g n a S. - Influenza delle ghiandole endocrine sul potere catalasico del sangue. Nota. III. Catalasi e tiroide. *Arch. di Farmacol. sperim.*, 1928, **45**, 245.

(17) N a k a m u r a S. - Ueber die Beziehungen der Schilddrüsenfunktion und der fermentativen Wirkungen des Blutserums. *Folia endocrinol. jap.*, 1926, **2**, 87. Cit. da R o n a P. - *Ber. ü. d. ges. Physiol. u. exp. Pharmakol.*, 1927, **41**, 99.

Estratto dall'*Archivio di Fisiologia*.

Vol. XXXI° — Fasc. 4°

IL TEMPO RIFLESSO NEL FENOMENO DEL GINOCCHIO DELL'UOMO.

(Con 5 figure intercalate nel testo).

Prof. Tullio Gayda.

(*Dall'Istituto di Fisiologia della R. Università di Pavia*).

I. — Introduzione.

Fino a quando non fu introdotto, nella tecnica fisiologica, l'uso del galvanometro a corda, il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio dell'uomo fu determinato con metodi grafici.

Così Jendrassik (1) si servì di un dispositivo costituito da un circuito elettrico, in cui erano inseriti: a) un segnalino scrivente, b) uno speciale interruttore posto sul quadricipite, nel punto in cui il muscolo, durante la contrazione, assumeva il massimo spessore, c) un apposito ditale metallico, di cui si armava il dito, che percuoteva il legamento patellare, d) una linguetta metallica, fissata al ditale, ma da esso isolata. Nell'istante della percussione la linguetta veniva a toccare il ditale chiudendo il circuito, che poi veniva aperto dall'interruttore, non appena il muscolo cominciava a contrarsi. Facendo uso di questo apparecchio, Jendrassik trovò che il tempo riflesso lordo, nel fenomeno del ginocchio, è al minimo di 31 σ, ma più spesso di 39 σ. D'altra parte, stimolando direttamente il quadricipite, Jendrassik trovò che il tempo latente muscolare oscilla fra 8 e 10 σ.

Ma, quando si cominciò ad adoperare il galvanometro a corda, il tempo riflesso fu misurato, quasi esclusivamente, determinando l'intervallo di tempo, che intercedeva fra il momento in cui si percuoteva il legamento patellare e il momento in cui si produceva la corrente d'azione nel quadricipite.

Così Hoffmann (2) trovò che il tempo riflesso lordo è di 19-24 σ e quello netto di 9 σ. Snyder (3) rinvenne un tempo riflesso lordo di 13-14 σ (minimo 8 σ, massimo 15 σ) e un tempo latente muscolare di 2,5-3,6 σ per il retto del femore stimolato direttamente. Jolly (4) riscontrò un tempo riflesso lordo di 20,5-22,7 σ (minimo 11,7 σ, massimo 24,4 σ); Schäffer (5) uno di 21 σ in media. Tuttle, Travis e Hunter (6) raccolsero la corrente d'azione del quadricipite e la registrarono fotograficamente facendo uso di un dispositivo amplificatore e trovarono che l'intervallo di tempo, che intercede fra il momento in cui si percuote il legamento patellare e il momento in cui si inizia la corrente d'azione del quadricipite, è in media di 19,4 σ (minimo 10,5 σ, massimo 32,5 σ), mentre l'intervallo di tempo, che intercede fra il momento in cui si percuote il legamento patellare e il momento in cui comincia a muoversi la gamba, è in media di 79,6 σ (minimo 55,7 σ, massimo 109,4 σ). Whitehorn e Lundholm (7), registrando la corrente d'azione del quadricipite, mediante il galvanometro a corda, osservarono che il tempo riflesso lordo è relativamente costante nello stesso individuo, ma varia nei diversi individui, in proporzione diretta colla statura; esso è di 20 σ per una statura di metri 1,60 e varia, in cifra tonda, di 1 σ per ogni tre pollici (76 mm.) di altezza.

Dopo l'introduzione dell'uso del galvanometro a corda, non mancarono tuttavia misurazioni del tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio eseguite ancora con metodi grafici.

Così Dodge (8) determinò il tempo riflesso registrando semplicemente la curva di spessore del quadricipite con una leva miografica. Tale curva presenta due sollevamenti: il primo è di origine meccanica, è dovuto alla percussione del legamento patellare e corrisponde perciò al momento dello stimolo, solo il secondo è prodotto dalla contrazione muscolare. Dodge trovò che questo metodo è il migliore fra tutti quelli grafici da lui provati, perchè dà, per il tempo riflesso, i valori più bassi e gli scarti minori. Egli ottenne infatti, con tale metodo, un valore medio di 37,5 σ, con una media delle variazioni di solo 0,75 σ, mentre, cogli altri metodi, osservò valori notevolmente maggiori, che potevano giungere a raddoppiarsi, con una media delle variazioni, che poteva aumentare fino a diventare quindici volte maggiore.

Piéron (9) misurò il tempo riflesso servendosi di un martello percussore a contatto elettrico e registrando la curva di spessore del muscolo mediante un miografo a trasmissione ad aria, del quale però

era conosciuto il ritardo della trasmissione stessa; il momento dello stimolo era talvolta riconoscibile nel tracciato dal movimento passivo, che subiva il muscolo per effetto della percussione. Piéron, seguendo questa tecnica, ottenne, per il tempo riflesso, un valore medio di 40,3 σ (minimo 31 σ, massimo 60 σ).

Castex (10,11) si servì, nella determinazione del tempo riflesso, dello stesso metodo seguito da Dodge, ma registrò la curva di spessore del muscolo mediante un filo inestensibile fissato alla coscia ad una sua estremità, teso da una molla all'altra e collegato ad una leva miografica. Egli ottenne valori che oscillavano fra 29 σ e 40 σ.

Fra tutti i metodi usati per misurare il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio i più esatti sono certamente quelli che utilizzano, come risposta allo stimolo, la corrente d'azione del quadricipite, perchè non presentano gli inconvenienti dovuti inevitabilmente all'inerzia degli apparecchi registratori, per quanto accurati questi siano nella loro costruzione. Infatti i metodi suddetti sono anche quelli che forniscono i valori più bassi del tempo riflesso. È da notare tuttavia che ciò è dovuto in parte al fatto che nei valori ottenuti con tali metodi non figura il tempo latente muscolare relativo alla contrazione, ma solo quello relativo alla corrente d'azione, il quale, come è noto, è più breve (2,5-3,6 σ, secondo Snyder, invece di 8-10 σ secondo Jendrassik). Fra i metodi grafici poi è da aspettarsi che diano, per il tempo riflesso, valori più bassi quelli, nei quali viene registrata la curva di spessore del muscolo e non il movimento di tutto l'arto, perchè in questi metodi è evitata l'inerzia dell'arto che si muove.

Non ostante tutte queste considerazioni, allo scopo di potere misurare il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio, provocato ritmicamente da una serie anche molto lunga di stimoli, ho ideato un dispositivo, nel quale si utilizza il cronoscopio di Hipp, per la determinazione del tempo riflesso, mentre nello stesso tempo si registra sul cilindro affumicato l'ampiezza del riflesso patellare. Con tale dispositivo, senza andare incontro alle spese notevoli, che richiederebbe la registrazione fotografica della corrente d'azione del quadricipite mediante il galvanometro a corda, è possibile continuare, anche per un tempo molto lungo, a misurare ritmicamente il tempo riflesso e a registrare l'ampiezza del corrispondente movimento riflesso ed è possibile perciò studiare le modificazioni graduali, che gli interventi sperimentali possono produrre nel riflesso patellare.

II. — Tecnica.

Il dispositivo da me usato è rappresentato schematicamente nella figura 1. Esso, nella parte destinata alla registrazione grafica dell'ampiezza del riflesso patellare, non è che una modificazione dell'apparecchio descritto da Tuttle (12) e semplificato poi da Perrini (13).

Per potere produrre lo stimolo, che deve determinare il riflesso patellare, si adopera il martello *a*, che percuote il legamento patellare sempre nello stesso punto, essendo il suo manico costituito da un'asta metallica rigida, lunga 25 cm., fissata alla sua estremità ad un'asse, che ruota senza attrito nella solida staffa metallica *b*. La testa del martello è costituita da un pezzo di metallo, sulla cui estremità destinata alla percussione è fissato trasversalmente il pezzo di gomma *c* (tubo di gomma a parete molto spessa), che ha lo scopo di fare rimbalzare il martello stesso dopo ogni percussione, così che questo possa essere subito afferrato colla mano e non ricada perciò sul legamento patellare. La testa del martello può essere staccata dal manico svitando la madrevite *d* ed essere sostituita con altre di peso diverso. La madrevite *e* serve poi per fissare superiormente la testa del martello.

Per potere graduare esattamente lo stimolo si utilizza il quadrante *f* (fissato alla staffa *b*), lungo il quale si può spostare il martello fino a portarlo ad una determinata altezza. Se il martello, nella sua posizione di riposo, viene a toccare appena il legamento patellare e se lo si sposta di un certo angolo, in modo che il suo centro di gravità venga innalzato di H, e poi lo si abbandona a sè stesso, la forza viva J, che esso ha acquistato nel momento in cui percuote il legamento patellare, deve essere uguale al lavoro compiuto nel sollevare il peso P del martello all'altezza H e perciò sarà:

$$J = P\ H.$$

L'intensità dello stimolo, espressa dalla forza viva del martello, è dunque direttamente proporzionale all'altezza alla quale viene innalzato il martello stesso e perciò, per potere disporre di stimoli, la cui intensità cresca in progressione aritmetica, nel quadrante sono stati praticati i fori *g*, in cui si può infiggere un piuolo metallico, contro il quale si spinge il martello prima di lasciarlo cadere sul le-

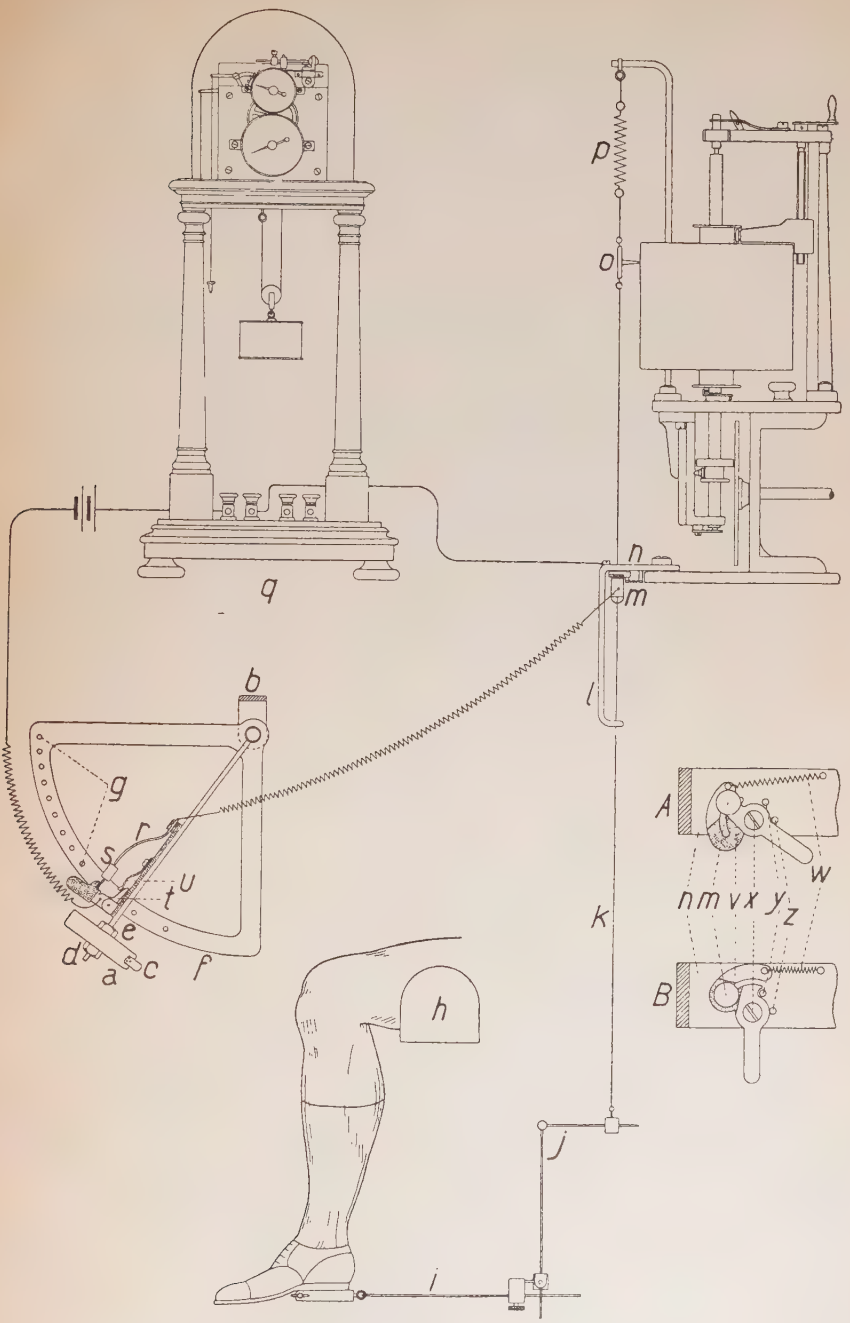


Fig. 1.

gamento patellare. I fori si trovano in posizione tale che il martello può cadere dall'altezza di 2 cm. o di un multiplo di 2.

Il peso P del martello viene determinato appoggiando sul piattello della bilancia solo l'estremità della testa del martello destinata alla percussione, mentre l'estremità del manico è libera di ruotare nella sua staffa, che è tenuta fissa fuori del piattello della bilancia. Il peso del martello adoperato di solito negli esperimenti, e così determinato, è di 175 g.

La staffa b, che porta il quadrante e il martello, fa corpo con un'asta metallica, che si può fissare, mediante un morsetto doppio, ad un'altra asta metallica solidamente fissata ad un ampio sedile (non disegnato nella figura) per il soggetto in esperimento. Tale sedile è fornito di cuscino, spalliera e braccioli e porta, a metà del suo margine libero, il reggicoscia h, rivestito di stoffa, che impedisce qualsiasi spostamento della coscia, mentre mantiene questa un po' sollevata dalla posizione orizzontale, così che il legamento patellare viene un po' teso e il riflesso si produce più facilmente. Il reggicoscia si trova a metà del margine libero del sedile per poter servire tanto per l'arto destro, quanto per quello sinistro.

Il movimento, che subisce la gamba nel riflesso patellare, viene registrato sul cilindro affumicato, mediante un sistema assolutamente inestensibile, così formato. Il filo metallico i ad una sua estremità è articolato con un apposito morsetto fissato al tacco della scarpa del soggetto in esperimento e all'altra estremità è fissato, mediante un morsetto doppio snodato, al braccio verticale della leva angolare metallica j, il cui asse ruota senza attrito in una staffa pure metallica fissata alla base del sedile. Al braccio orizzontale della leva angolare è poi fissata, mediante un morsetto, l'estremità inferiore del cordoncino di seta k, che passa attraverso ad un foro praticato nella parte orizzontale inferiore della lastra metallica l piegata due volte ad angolo retto, porta in un certo punto il blocco metallico m (forato nel suo asse, per dar passaggio al cordoncino, e munito inferiormente di una staffa, alla quale è annodato il cordoncino stesso), passa quindi attraverso ad un altro foro praticato nella parte orizzontale superiore n della stessa lastra l, fissata alla base del chimografo, e va a congiungersi coll'estremità inferiore della piastrina metallica o, su cui è fissata la penna scrivente sul cilindro affumicato. L'estremità superiore della piastrina o è poi congiunta colla molla spirale p, che pende da un'asta metallica fissata al chimografo.

La leva angolare j ha lo scopo non solo di rendere possibile la re-

gistrazione della contrazione muscolare, ma anche quello di ridurre l'ampiezza della contrazione stessa. Tale ampiezza viene ridotta di solito negli esperimenti ad un quarto. L'ufficio del pezzo di lastra *n* è quello di servire di arresto al blocco *m* e quindi al filo *k* e di mantenere perciò costante la tensione del legamento patellare (determinata dalla molla *p*) prima di ogni contrazione e di far in modo che la penna scrivente, nella posizione di riposo, rimanga sempre sulla stessa ascissa.

Per poter misurare il tempo riflesso serve il dispositivo seguente.

Nel circuito elettrico, che passa per il cronoscopio di Hipp *q*, sono inseriti due interruttori.

Il primo è fissato al martello percussore del legamento patellare, ma è da esso isolato mediante una lastra di ebanite (punteggiata nella figura). Tale interruttore è costituito dalla molla d'acciaio *r*, che, ad un'estremità, è fissata alla lastra di ebanite ed è congiunta con un capo del circuito, mentre, presso all'altra estremità libera, porta il blocco metallico *s*. L'altro capo del circuito è congiunto colla leva angolare metallica *t*, il cui asse è girevole in una staffa fissata alla lastra di ebanite. Un braccio della leva è tenuto dalla molla d'acciaio *u* contro la lastra di ebanite; l'altro braccio, alla sua estremità libera, porta fissato un pezzo di ebanite (punteggiato nella figura), che, dalla parte rivolta verso la molla *r*, si prolunga in un dente; immediatamente al di sotto di questo dente, la parte metallica del braccio di leva presenta un'intaccatura.

Prima della percussione del legamento patellare, si muove tale braccio di leva in modo che l'estremità libera della molla *r*, per l'elasticità di questa, si sposti fino ad applicarsi contro il dente di ebanite; l'interruttore perciò rimane aperto. Ma, nel momento in cui il martello percuote il legamento patellare, il blocco *s*, per la forza viva acquistata durante la caduta del martello, fa incastrare l'estremità libera della molla *r* nell'intaccatura della parte metallica della leva *t*; l'interruttore così si chiude. Poichè in questo momento, come sarà detto più sotto, anche il secondo interruttore è chiuso, il circuito viene percorso dalla corrente e le lancette del cronoscopio si mettono in movimento.

Il secondo interruttore si trova sotto il pezzo di lastra *n* ed è rappresentato, come appare guardandolo dal di sotto, nei dettagli *A* e *B* della figura 1, disegnati in scala maggiore che il resto del dispositivo. Questo interruttore è costituito del settore *v*, che, tirato dalla molla *w*, può girare attorno all'asse *x*, fissato sulla superficie

inferiore del pezzo di lastra *n*, il quale è congiunto con un capo del circuito; il movimento del settore è però limitato dai denti d'arresto *y* e *z*. Il settore è formato in parte di metallo, in parte di ebanite (punteggiata nella figura) ed ora l'una parte, ora l'altra possono venire a contatto col blocco metallico *m*, al quale è congiunto l'altro capo del circuito.

Quando l'arto è in riposo, si fa girare il settore, fino a che sia arrestato dal dente *z*; in questa posizione, il blocco *m*, tirato in alto dalla molla *p*, viene ad essere applicato contro la parte metallica del settore e perciò il circuito viene chiuso (vedi dettaglio *A*). Ma, non appena, per il movimento riflesso della gamba, il blocco *m* si abbassa, il circuito si apre e le lancette del cronoscopio, che si erano messe in movimento per la chiusura del primo interruttore, si arrestano. Quando la gamba torna in riposo, il blocco *m* viene ad essere applicato di nuovo contro il settore *v*, ciò non ostante il circuito rimane aperto, perchè, nel momento in cui il blocco si è abbassato, il settore, tirato dalla molla *w*, ha girato intorno al suo asse e si è arrestato contro il dente *y*; perciò il blocco è applicato ora contro la parte del settore formata di ebanite (vedi dettaglio *B*).

Per il giuoco descritto dei due interruttori, le lancette del cronoscopio si muovono dunque solo fra il momento, in cui si chiude il primo interruttore, e il momento, in cui si apre il secondo, vale a dire fra il momento, in cui lo stimolo colpisce il legamento patellare, e il momento, in cui il quadricipite comincia a contrarsi. Il valore del tempo riflesso è dato perciò direttamente dalla lettura del cronoscopio.

Per misurare il tempo riflesso successivo, si apre anzitutto il primo interruttore; a questo scopo si libera la molla *r* dall'intaccatura muovendo la leva *t*; l'estremità libera della molla, per l'elasticità di questa, si sposta fino ad applicarsi contro il dente di ebanite. Si chiude quindi il secondo interruttore facendo girare il settore *v* fino a che sia arrestato dal dente *z*; il blocco *m* viene allora ad essere applicato contro la parte metallica del settore stesso. In queste condizioni il dispositivo è pronto per la determinazione del tempo riflesso.

Esperimenti di controllo, eseguiti sostituendo alla gamba una leva di legno di primo genere, tenuta verticalmente, sull'estremità superiore della quale si faceva cadere il martello percussore, mentre all'estremità inferiore era fissato il filo *i*, dimostrarono che nel dispositivo adottato per la misurazione del tempo riflesso non si produce praticamente alcun ritardo imputabile all'inerzia del sistema o

alla distensione dei fili *i* o *k*, infatti fra la chiusura del primo interruttore e l'apertura del secondo non decorse mai un intervallo di tempo misurabile col cronoscopio di Hipp; tutt'al più l'asse della lancetta del quadrante superiore del cronoscopio venne momentaneamente attratta dall'elettrocalamita, ma non ebbe affatto il tempo di girare. Di fronte a questi risultati, sorse però il dubbio che il cronoscopio rimanesse immobile perchè il secondo interruttore si aprisse prima che il primo si chiudesse. Per dirimere questo dubbio, fu eseguita una seconda serie di esperimenti di controllo, nei quali i due interruttori furono modificati in modo che il primo si aprisse, quando avrebbe dovuto chiudersi, mentre il secondo si chiudesse, quando avrebbe dovuto aprirsi. Ciò fu ottenuto nel modo seguente: nel primo interruttore, e precisamente nel punto del dente di ebanite, contro il quale veniva ad applicarsi la molla *r*, fu fissata una lastrina metallica congiunta con un capo del circuito, mentre l'altro capo rimaneva congiunto colla molla *r*; nel secondo interruttore il capo del circuito, che era collegato col blocco *m*, fu invece saldato ad una lastrina metallica fissata alla base del chimografo, ma da essa isolata, lastrina colla quale poteva venire in contatto il braccio rettilineo del settore *v*, non appena questo, per l'abbassarsi del blocco *m*, si spostava dalla posizione rappresentata nel dettaglio *A*. Orbene i risultati ottenuti da questa seconda serie di esperimenti di controllo furono perfettamente uguali a quelli ottenuti dalla prima serie e confermarono perciò che fra la chiusura di un interruttore e l'apertura dell'altro non vi è praticamente tempo perduto.

Se il riflesso patellare viene provocato ritmicamente da una serie di stimoli, che si susseguono ad intervalli abbastanza lunghi, la misurazione del tempo riflesso e la registrazione contemporanea dell'ampiezza del riflesso patellare possono essere compiute agevolmente da una sola persona, ma se gli intervalli fra gli stimoli sono solo di 8″-10″, occorrono due persone: l'una produce gli stimoli, seguendo un metronomo o un orologio che segni i secondi, e manovra gli interruttori, l'altra fa la lettura del cronoscopio.

Il soggetto in esperimento deve essere libero di pantaloni, giarrettiere e legacci, deve rimanere assolutamente tranquillo e immobile e non essere disturbato da rumori o dalla presenza di altre persone, deve tenere i muscoli completamente rilasciati e deve avere gli occhi bendati. Stabilito, mediante il martello da percussione, il punto del legamento patellare, che stimolato provoca il riflesso più ampio, è facile, manovrando opportunamente gli appositi morsetti,

spostare il martello *a*, in modo che esso cadendo colpisca il punto stabilito, e dare al filo *i* la tensione necessaria, affinchè il movimento della gamba venga trasmesso, senza perdita di tempo, alla penna scrivente.

III. — Risultati sperimentali.

Gli esperimenti, di cui riferisco qui appresso i risultati, furono eseguiti esclusivamente su giovani dell'età di 18-25 anni, tutti studenti universitari, perfettamente sani. Il martello, che percuoteva il legamento patellare, pesava sempre 175 g.; dove non è detto altrimenti, cadeva sempre dall'altezza di 8 cm.; le percussioni si susseguivano a intervalli di $10''$.

Nelle tabelle, che seguono, sono raccolti i risultati ottenuti dagli esperimenti; in queste tabelle, *N* indica il numero delle determinazioni eseguite, *M* la media dei valori ottenuti nelle singole determinazioni, espressa in σ per il tempo riflesso e in mm. per l'ampiezza del movimento riflesso (ridotta nei tracciati a 1/4 dell'ampiezza reale dalla leva angolare *j*), *MV* la media delle variazioni. Nelle figure 2-5 sono riprodotti, come esempi, alcuni tracciati del riflesso patellare ottenuti in diversi esperimenti.

Nella tabella I sono prospettati i risultati ottenuti dalle determinazioni eseguite sul riflesso patellare normale in otto soggetti destri e in due mancini. Nelle figure 2 e 3 sono riprodotti alcuni tracciati del riflesso ottenuti rispettivamente in un soggetto destro ed in uno mancino.

Fig. 2 (ridotta a 1 2 dell'originale). — Esperimento IV, eseguito il 28. II. 1931, sul soggetto C. A. destro. Riflesso patellare nel lato destro (*a*) e nel lato sinistro (*b*), provocato ritmicamente da un martello percussore del peso di 175 g., che cadeva dall'altezza di 8 cm., ogni 10″. Nel tracciato originale l'ampiezza del movimento riflesso è ridotta dalla leva angolare a 1 4 dell'ampiezza reale.

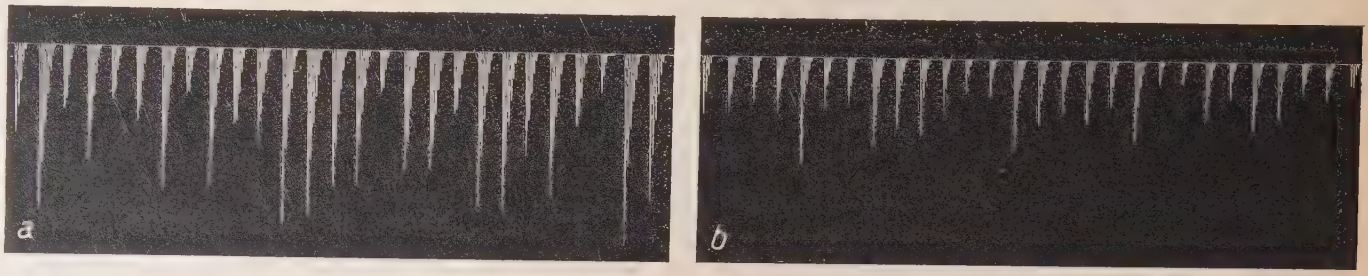


Fig. 3 (ridotta a 1 2 dell'originale). — Esperimento XIV, eseguito il 19. V. 1931 sul soggetto V. A. mancino. Riflesso patellare nel lato destro (*a*) e nel lato sinistro (*b*), provocato ritmicamente da un martello percussore del peso di 175 g., che cadeva dall'altezza di 8 cm. ogni 10″. Nel tracciato originale l'ampiezza del movimento riflesso è ridotta dalla leva angolare a 1/4 dell'ampiezza reale.

TABELLA I.

Riflesso patellare normale.

Numero dell'esperimento	DATA 1931	Soggetto	Tempo riflesso						Ampiezza del movimento riflesso					
			nel lato destro			nel lato sinistro			nel lato destro			nel lato sinistro		
			N	*M*	*MV*	*N*	*M*	*MV*	*N*	*M*	*MV*	*N*	*M*	*MV*
III	20 . II	B. C	21	35	4	22	30	5	73	45	5	75	46	3
IV	28 . II	C. A.	35	36	5	42	30	5	75	40	4	75	46	5
VII	10 . III	P. C.	39	35	3	34	34	4	65	26	6	64	31	7
VIII	14 . III	Z. A.	59	38	3	45	35	3	76	19	4	77	27	4
IX	28 . III	F. G.	35	35	4	42	32	5	67	24	6	72	28	5
X	10 . IV	M. G.	62	35	3	57	31	4	76	41	7	76	49	5
XI	14 . IV	C. M.	25	43	4	30	40	4	76	34	7	76	53	5
XII	2 . V	B. D.	41	27	4	38	26	4	66	61	6	66	70	3
XIII	2 . V	S. A.	35	31	3	41	37	4	74	21	6	73	10	7
XIV	19 . V	V. A.	68	23	4	59	26	4	76	29	7	76	15	5

Osservazioni. — I primi otto soggetti sono destri, i due ultimi mancini.

Il primo fatto, che risulta dall'esame dei dati contenuti nella tabella I e dall'osservazione delle figure 2 e 3, è che tanto il tempo riflesso, quanto l'ampiezza del movimento riflesso nel fenomeno del ginocchio sono diversi nei due lati del corpo ed anzi si comportano in modo opposto negli individui destri e in quelli mancini. Nei primi a sinistra il tempo riflesso è minore e l'ampiezza del movimento riflesso è maggiore che a destra, mentre nei mancini si verifica perfettamente il contrario. Infatti negli individui destri il tempo riflesso è a destra di 36 σ in media (minimo 27 σ, massimo 43 σ) e a sinistra di 32 σ in media (minimo 26 σ, massimo 40 σ) e l'ampiezza del movimento riflesso è a destra di 37 mm. in media (minimo 19 mm., massimo 61 mm.) e a sinistra di 44 mm. in media (minimo 27 mm., massimo 70 mm.); nei due individui mancini esaminati invece il tempo riflesso è a destra rispettivamente di 31 σ e di 23 σ e a sinistra di 37 σ e di 26 σ e l'ampiezza del movimento riflesso è a destra rispettivamente di 21 mm. e di 29 mm. e a sinistra di 10 mm. e di 15 mm.

La tabella II contiene i risultati ottenuti facendo variare l'intensità dello stimolo, che determinava il riflesso patellare, facendo cioè variare l'altezza dalla quale cadeva il martello percussore. La figura 4 riproduce alcuni tracciati del riflesso così ottenuti.

TABELLA II.

Influenza dell'intensità dello stimolo sul riflesso patellare.

Numero dell'esperimento	DATA 1931	Soggetto	Altezza di caduta del martello in cm	Tempo riflesso			Ampiezza del movimento riflesso		
				N	*M*	*MV*	*N*	*M*	*MV*
I	16 . II	C. A.	2	16	37	3	33	13	4
			4	12	34	2	35	31	5
			8	15	31	3	34	45	5
			12	14	29	2	29	55	5
II	18 . II	B. C.	2	15	35	3	21	15	5
			4	12	33	2	19	32	6
			8	15	30	3	19	52	5
			12	12	28	3	15	60	4

Osservazioni. – Gli esperimenti furono eseguiti solo nel lato sinistro.

Come appare chiaramente dall'esame della tabella II e della figura 4, coll'aumentare dell'altezza di caduta del martello da 2 cm. a 12 cm., il tempo riflesso diminuisce gradatamente da 37 σ a 29 σ in un soggetto e da 35 σ a 28 σ in un altro, mentre l'ampiezza del movimento riflesso aumenta da 10 mm. a 55 mm. nel primo soggetto e da 13 mm. a 69 mm. nel secondo.

Infine nella tabella III sono riassunti i risultati ottenuti studiando l'influenza che la manovra di Jendrassik esercita sul riflesso patellare. Nella figura 5 sono riprodotti alcuni dei tracciati relativi.

Tabella III.

Influenza della manovra di Jendrassik *sul riflesso patellare.*

Numero dell'esperimento	DATA 1931	Soggetto	Condizione dell'esperimento	Tempo riflesso			Ampiezza del movimento riflesso		
				N	*M*	*MV*	*N*	*M*	*MV*
V	7. III	B. C.	senza m. J.	19	32	3	25	45	4
			con m. J.	21	23	4	44	72	6
VI	7. III	C. A.	senza m. J.	17	30	4	28	47	2
			con m. J.	18	24	4	44	75	7

Osservazioni. — Gli esperimenti furono eseguiti solo nel lato sinistro. Nella quarta colonna m. J. significa manovra di Jendrassik.

L'ispezione della tabella III e della figura 5 dimostra che la manovra di Jendrassik fa diminuire il tempo riflesso nei due soggetti esaminati da 32 σ a 23 σ e da 30 σ a 24 σ, mentre fa aumentare l'ampiezza del movimento riflesso da 45 mm. a 72 mm. e da 47 mm. a 75 mm.

IV. — Discussione dei risultati sperimentali.

Il diverso modo di comportarsi del riflesso patellare nei due lati del corpo era già stato osservato da Perrini (13) nel corso di alcune ricerche da me consigliategli. Egli aveva però limitato le sue indagini alla registrazione dell'ampiezza del movimento riflesso ed aveva sperimentato esclusivamente su individui destri; tuttavia aveva potuto

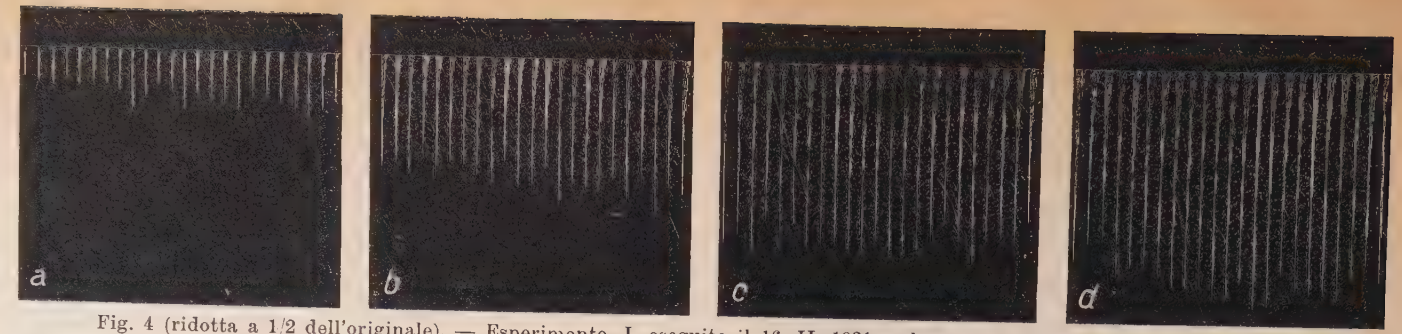


Fig. 4 (ridotta a 1/2 dell'originale). — Esperimento I, eseguito il 16. II. 1931 sul soggetto C. A. Riflesso patellare nel lato sinistro, provocato ritmicamente da un martello percussore del peso di 175 g., che cadeva, ogni 10″, dall'altezza di 2 cm. (*a*) di 4 cm. (*b*), di 8 cm. (*c*) e di 12 cm. (*d*). Nel tracciato originale l'ampiezza del movimento riflesso è ridotta dalla leva angolare a 1/4 dell'ampiezza reale.

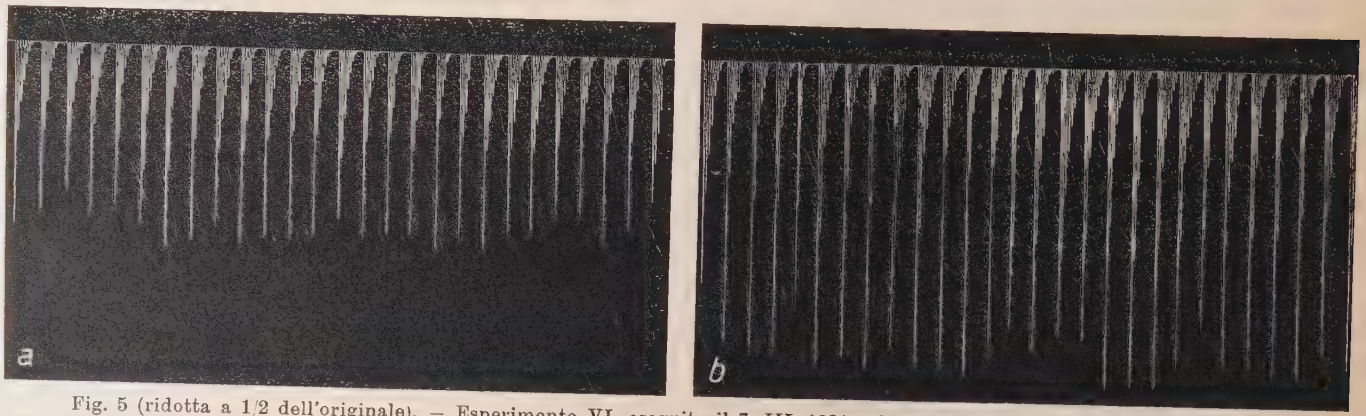


Fig. 5 (ridotta a 1/2 dell'originale). — Esperimento VI, eseguito il 7. III. 1931 sul soggetto C. A. Riflesso patellare nel lato sinistro, provocato ritmicamente da un martello percussore del peso di 175 g., che cadeva dall'altezza di 8 cm., ogni 10″, senza la manovra di Jendrassik (*a*) e con tale manovra (*b*). Nel tracciato originale l'ampiezza del movimento riflesso è ridotta dalla leva angolare a 1/4 dell'ampiezza reale.

constatare che l'ampiezza del movimento riflesso è di solito maggiore a sinistra che a destra. Questo fatto era stato messo in rapporto coll'inibizione esercitata dai centri nervosi superiori sul riflesso patellare. Poichè negli individui destri l'emisfero cerebrale di sinistra predomina, dal punto di vista funzionale, su quello di destra, si era pensato che tale predominio si verifichi anche per quanto riguarda l'azione inibitrice sul riflesso patellare e che per conseguenza il lato destro sia quello che maggiormente subisce tale inibizione.

I risultati ottenuti dai miei esperimenti indicano che questa azione inibitrice centrale non si esercita solo sull'ampiezza del movimento riflesso, ma anche sul tempo riflesso. Ciò d'altronde era già stato osservato da Fano (14) nel cane per il movimento riflesso, che segue alla stimolazione elettrica di un arto; Fano infatti aveva trovato che l'asportazione del lobo frontale determina una diminuzione del tempo riflesso, mentre la stimolazione elettrica dello stesso lobo produce aumento del tempo riflesso e diminuzione dell'ampiezza del movimento riflesso.

Che il diverso comportamento del tempo riflesso e dell'ampiezza del movimento riflesso nei due lati del corpo sia da attribuirsi ad un diverso grado di inibizione esercitato dai due emisferi cerebrali sul riflesso patellare è dimostrato chiaramente dal fatto che tale comportamento nei soggetti mancini è perfettamente contrario a quello che si osserva nei soggetti destri. Poichè nei mancini l'emisfero cerebrale destro predomina, in riguardo alla sua funzione, su quello sinistro, mentre l'opposto si verifica nei soggetti destri, il maggior tempo riflesso e la minore ampiezza del movimento riflesso, che si osservano a sinistra negli individui mancini e a destra in quelli destri, non possono essere dovuti che ad un predominio dell'emisfero destro nei mancini e di quello sinistro nei destri, per quanto riguarda l'azione inibitrice sul riflesso patellare del lato opposto.

In quanto poi ai valori assoluti del tempo riflesso trovati nei miei esperimenti, essi risultano dello stesso ordine di grandezza di quelli osservati dagli autori, che misurarono il tempo riflesso servendosi di metodi grafici; anzi sono perfino un po' minori di quelli riscontrati da Dodge (8), che pure fu l'autore che ottenne i valori più bassi. Poichè Dodge determinò il tempo riflesso registrando la curva di spessore del quadricipite e non il movimento di tutto l'arto, evitando così l'inerzia dell'arto stesso che si muove, il fatto che i valori ottenuti col mio metodo sono minori di quelli trovati da Dodge depone incontestabilmente per la bontà del mio metodo.

La diminuzione graduale del tempo riflesso da me constatata nei miei esperimenti, coll'aumentare dell'intensità dello stimolo, era già stata osservata concordemente da DODGE (8), da PIÉRON (9) e da CASTEX (11). Secondo DODGE la diminuzione del tempo riflesso, che si verifica in queste condizioni, dipende essenzialmente dalla velocità colla quale il martello percussore cade sul legamento patellare; infatti il tempo riflesso diminuisce in modo ben evidente solo quando aumenta la velocità del martello, pur rimanendo costante il suo peso, mentre diminuisce poco o nulla quando aumenta solo il peso del martello, ma rimane costante la sua velocità.

Nei miei esperimenti l'aumento dell'intensità dello stimolo produsse anche un aumento dell'ampiezza del movimento riflesso. Ora DODGE (8) constatò che nel riflesso patellare lo stimolo e la reazione stanno fra di loro presso a poco in quello stesso rapporto, che è espresso dalla legge di WEBER-FECHNER. Tale rapporto sussiste anche fra i valori da me ottenuti, come risulta dal confronto fra i seguenti valori trovati e valori calcolati dell'ampiezza del movimento riflesso negli esperimenti I e II, considerando, come intensità dello stimolo, la forza viva acquistata dal martello nella sua caduta, cioè il prodotto del peso del martello per l'altezza della sua caduta:

ESPERIMENTO I.

Valori trovati	Valori calcolati	Differenza
13	15	—2
31	30	+1
45	45	0
55	54	+1

ESPERIMENTO II.

Valori trovati	Valori calcolati	Differenza
15	16,5	—1,5
32	33,5	—1,5
52	50	+2
60	60	0

Infine, analogamente a quanto si verificò per l'aumento dell'intensità dello stimolo, ma in misura ancora più notevole, anche la manovra di JENDRASSIK determinò, nei miei esperimenti, una dimi-

nuzione del tempo riflesso ed un aumento dell'ampiezza del movimento riflesso. Variazioni dello stesso ordine di grandezza trovò Piéron (9) nel tempo riflesso, pure per effetto della manovra di Jendrassik.

V. — Conclusioni.

1°. È descritto un dispositivo, mediante il quale si può determinare il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio dell'uomo, utilizzando il cronoscopio di Hipp, mentre nello stesso tempo si può registrare l'ampiezza del riflesso patellare su un cilindro affumicato. Il dispositivo permette di determinare il tempo riflesso e di registrare l'ampiezza del corrispondente movimento riflesso nel fenomeno del ginocchio, provocato ritmicamente da una serie anche molto lunga di stimoli, e rende perciò possibile lo studio delle modificazioni graduali, che gli interventi sperimentali possono produrre nel riflesso patellare.

2°. Negli individui destri a sinistra il tempo riflesso nel fenomeno del ginocchio è minore e l'ampiezza del movimento riflesso è maggiore che a destra, mentre nei mancini si verifica perfettamente il contrario. Questo comportamento si deve attribuire al fatto che negli individui destri l'emisfero cerebrale di sinistra predomina, dal punto di vista funzionale, su quello di destra e che tale predominio si verifica anche per l'azione inibitrice, che gli emisferi esercitano sul tempo riflesso e sull'ampiezza del movimento riflesso nel fenomeno del ginocchio del lato opposto. Nei mancini invece è l'emisfero cerebrale di destra che predomina su quello di sinistra e perciò il comportamento sia del tempo riflesso, sia dell'ampiezza del movimento riflesso è opposto a quello che si osserva negli individui destri.

3°. L'aumento dell'intensità dello stimolo, come pure la manovra di Jendrassik, fanno diminuire il tempo riflesso e aumentare l'ampiezza del movimento riflesso nel fenomeno del ginocchio. L'intensità dello stimolo e l'ampiezza del movimento riflesso stanno fra di loro presso a poco in quello stesso rapporto, che è espresso dalla legge di Weber-Fechner.

Bibliografia.

(1) Jendrassik E. Ueber die allgemeine Localisation der Reflexe. « Deutsch. Arch. f. klin. Med. », LII, 569, 1894.

(2) Hoffmann P. Beiträge zur Kenntnis der menschlichen Reflexe mit besonderer Berücksichtigung der elektrischen Erscheinungen. « Arch. f. (Anat. u.) Physiol ». 223, 1910.

(3) Snyder C. D. The latency of knee-jerk response in man as measured by the thread galvanometer. « Americ. Journ. of Physiol. », XXVI, 474, 1910.

(4) Jolly W. A. On the time relations of the knee-jerk and simple reflexes. « Quart. Journ. of exp. Physiol. », IV, 67 1911.

(5) Schäffer H. Ueber Sehnenreflexe und die Methodik ihrer Latenzzeitbestimmung. « Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatr. », LXXIV, 605, 1922.

(6) Tuttle W. W., Travis L. E. and Hunter T. A. A study of the reflex time of the knee-jerk and the Achilles-jerk. « Americ. Journ. of Physioi. », LXXXII, 99, 1927.

(7) Whitehorn J. C. and Lundholm H. The relation between stature and the latent period of the knee-jerk. « Americ. Journ. of Physiol. », XCII, 214, 1930.

(8) Dodge R. A systematic exploration of a normal knee-jerk, its technique, the form of the muscle contraction, its amplitude, its latent time and its theory. « Zeitschr. f. allg. Phyiol. », XII, 1, 1912.

(9) Piéron H. Le temps de latence des divers réflexes tendineux. Facteurs de variation. Analyse. Détermination du « temps propre du réflexe ». « Compt. Rend. de la Soc. de Biol. », LXXX, 651, 1917.

(10) Castex E. Nouvelle méthode d'inscription mécanique du réflexe rotulien chez l'homme. « Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. », XX, 331, 1922.

(11) Id. Contribution à l'étude graphique du réflexe rotulien chez l'homme. « Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. », XXIX, 242, 1931.

(12) Tuttle W. W. An apparatus for eliciting and recording the patellar tendon reflex. « Americ. Journ. of Physiol. », LXVIII, 338, 1924.

(13) Perrini F. Influenza del lavoro muscolare sul riflesso patellare. « Arch. di Scienze Biolog. », XI, 28, 1928.

(14) Fano G. Contributo alla localizzazione corticale dei poteri inibitori. « Rend. della R. Accad. dei Lincei », IV, II sem., 115, 1895.